

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina



TESIS DOCTORAL

Influencia de los polimorfismos del gen UGT 1 A9 en la farmacocinética y tolerancia gastrointestinal del ácido micofenólico en el trasplante renal

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Natividad Calvo Romero

Directores

Alberto Barrientos Guzmán
Ana Sánchez Fructuoso

Madrid, 2017

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina



TESIS DOCTORAL

INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS DEL GEN UGT 1 A9 EN
LA FARMACOCINÉTICA Y TOLERANCIA GASTROINTESTINAL
DEL ÁCIDO MICOFENÓLICO EN EL TRASPLANTE RENAL.

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

NATIVIDAD CALVO ROMERO

DIRECTORES

ALBERTO BARRIENTOS GUZMÁN

ANA SÁNCHEZ FRUCTUOSO

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS DEL GEN UGT 1 A9 EN
LA FARMACOCINÉTICA Y TOLERANCIA GASTROINTESTINAL
DEL ÁCIDO MICOFENÓLICO EN EL TRASPLANTE RENAL

TESIS DOCTORAL

NATIVIDAD CALVO ROMERO

Madrid, 2015

**ESTA TESIS HA SIDO PARCIALMENTE FINANCIADA POR LA
FUNDACIÓN DE INVESTIGACIÓN MÉDICA MUTUA MADRILEÑA .**

(VI Convocatoria de Ayuda a la Investigación, 2009)



El Profesor D. Alberto Barrientos Guzmán.

Catedrático Emérito de Nefrología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid. Exjefe de Servicio de Nefrología del Hospital Clínico San Carlos de Madrid.

Doctora Ana Sánchez Fructuoso

Responsable del Servicio/ Jefe de Sección de Nefrología del Hospital Clínico San Carlos de Madrid y Profesora asociada al Departamento de Medicina Interna de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado "INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS DEL GEN UGT 1A9 EN LA FARMACOCINÉTICA Y TOLERANCIA GASTROINTESTINAL DEL ÁCIDO MICOFENÓLICO EN EL TRASPLANTE RENAL", ha sido llevado a cabo bajo nuestra dirección por Dña Natividad Calvo Romero y reúne las condiciones exigibles para ser presentado como tesis para aspirar a la obtención del grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid.

Para que conste y surta los efectos oportunos, firmamos el presente certificado.

Prof. Alberto Barrientos Guzmán Dra. Ana Sánchez Fructuoso

Madrid ,15 de Octubre del 2015

INFORME DEL DIRECTOR

La tesis titulada "influencia de los polimorfismos del gen UGT 1 A9 en la farmacocinética y tolerancia gastrointestinal del ácido micofenólico en el trasplante renal" es un estudio realizado en un importante número de pacientes trasplantados renales que estudia cómo influyen diferentes polimorfismos genéticos de las enzimas UDP-glucuronosiltransferasa en la farmacocinética y efectos adversos del ácido micofenólico, un inmunosupresor clave en el trasplante. Este era un aspecto estudiado previamente en número escaso de pacientes y con resultados dispares. Aporta además una rigurosa valoración de los efectos adversos gastrointestinales del ácido micofenólico mediante la aplicación de dos test validados en esta población (Gastrointestinal Symptom Rating Scale y Gastrointestinal Quality of LifeIndex).

Otro aspecto importante es la realización de curvas de farmacocinética abreviadas para estimar el área bajo la curva total de doce horas en pacientes tratados con micofenolato sódico y tacrólimus. Este estudio fue pionero y publicado en una revista de farmacología de alto impacto, que ha servido como guía a otros investigadores de forma que los datos han sido validados tanto en el campo del trasplante como en el de enfermedades sistémicas como lupus eritematoso.

Como fruto de estas investigaciones se han publicado 5 artículos y se han realizado 20 comunicaciones a congresos nacionales e internacionales, estando aún pendiente la publicación del artículo final. Esto afianza el interés en el campo del trasplante de la investigación realizada.

Por todo ello, pienso que por la originalidad, rigurosa metodología y la relevancia de los resultados obtenidos en este trabajo, son de buen nivel y reúnen los requisitos necesarios para ser admitidos a trámite para tesis doctoral

DEDICATORIA

A mis hijos, Carmen y David, sin duda alguna mis motores para seguir investigando, viviendo...

A mi familia, a Paula y a mis hermanos, que son como cinco angeles custodios sin los que no podría haber escrito ni una letra.

A mis padres, Florentino y en especial a María Nieves, in memoriam (aunque ya no estás, te imagino disfrutando viendo el resultado de este proyecto).

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar dar las gracias a la Doctora Ana Sánchez por comprenderme, cuidarme y acogerme como su discípula. Por transmitirme tanta ciencia y aun más importante, enseñarme todas esas cosas que no están en los libros y que diferencian al buen maestro. Eres la ideóloga de esta tesis y sin tí nunca habría salido adelante, gracias por este regalo que no merezco.

En segundo lugar agradecer al Profesor Alberto Barrientos por enseñarme a amar la Nefrología, por hacerme pensar, sin duda, el mejor regalo en estos mundos de tanta presión asistencial.

También quiero agradecer a todas las personas que han participado en este estudio, desde los propios pacientes que esperaban horas para hacerse sus extracciones, hasta a las enfermeras: Elisa y Eliana por la paciencia que tuvieron quedándose hasta altas horas de la noche sacando muestras de sangre a los pacientes. A Marisa por descubrirme el apasionante mundo de la genómica. A Paco que me motivó cuando más lo necesitaba y me regaló su preciado tiempo y su buen hacer ayudandome con el diseño gráfico. A Jose Luis por su inestimable ayuda con la informática y por sus buenos consejos, no sólo técnicos. A Cristina por su paciencia para enseñarme estadística y su generosidad. A mis compañeras por estar ahí siempre.

Al Hospital Clínico, donde hice la carrera, la residencia y donde continuó mi labor profesional... sin duda mi segundo hogar.

A la Mutua Madrileña por apostar por este proyecto laborioso y prolongado en el tiempo, pero con resultados fructíferos y que han sido decisivos en la actitud terapéutica llevada a cabo con nuestra población renal.

INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS
DEL GEN UGT 1A9 EN LA
FARMACOCINÉTICA Y TOLERANCIA
GASTROINTESTINAL DEL ÁCIDO
MICOFENÓLICO EN EL TRASPLANTE

ABREVIATURAS

ATP: Adenosina trifosfato

ATP: ATP-binding cassett

AUC: Área bajo la curva

AZA: Azatioprina

BPAR: Rechazo agudo diagnosticado por biopsia

C max: Concentración máxima plasmática. Representa la concentración plasmática máxima

CCI: Intervalo de fiabilidad intraclase

CNI: Inhibidores de la calcineurina

CSA: Ciclosporina

CYP: Citocromo P450

DE: Desviación estándar

d-GTP: Deoxiguanosina trifosfato

EC-MPS: Micofenolato con

EMIT: Enzima multiplicante inmunoaseguradora

EVL: Everolimus

GIQLI: Gastrointestinal Quality of Life Index

GMP: Monofosfato de guanosina

GSRS: Gastrointestinal Sympton Rating Scale

GTP: Trifosfato de guanosina

HGPRT: Hipoxantina-guanina-fosfo-ribosiltransferasa

IMPDH: Inosinamonofosfato deshidrogenasa

LSS: Fórmulas abreviadas predictivas

MMF: Micofenolato mofetil

MPA: Ácido micofenólico

PRPP: Fosfo-ribosil-pirofosfato

RIC: Rango intercuartil (RIC)

SNP: Polimorfismo

SRL: Sirolimus.

T max: Tiempo máximo, tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima del fármaco

TAC: Tacrólimus

TPMT: Tiopurina metiltransferasa.

UGT: UDP-glucuronil transferasa.

1	RESUMEN.....	18
1.1	INTRODUCCIÓN.....	18
1.2	OBJETIVO.....	20
1.3	MATERIAL Y MÉTODOS	20
1.4	RESULTADOS.....	22
1.5	CONCLUSIONES.....	24
2	ABSTRACT	26
2.1	OBJECTIVES	26
2.2	MATERIAL AND METHODS.....	27
2.3	RESULTS	27
2.4	CONCLUSIONS:	28
3	INTRODUCCIÓN.	31
3.1	Presentación del fármaco a estudio.	31
3.1.1	Mecanismo de acción del ácido micofenólico.....	31
3.2	Micofenolato mofetil en el trasplante renal.....	35
3.3	Micofenolato sódico con recubrimiento entérico	44

3.4	Farmacocinética	50
3.4.1	Absorción y metabolismo	50
3.4.2	Interacciones en la absorción con otros fármacos.	56
3.4.3	Dosificación y Monitorización	59
3.5	FARMACOGENÓMICA	70
3.5.1	Definición.	70
3.5.2	Polimorfismos de complejos enzimáticos relacionados con la inmunosupresión	71
3.5.2.1	Proteínas reguladoras de transporte:.....	73
3.5.2.2	Polimorfismos de las dianas.	75
3.5.2.3	Enzimas de biotransformación:	75
4	JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	93
4.1	HIPÓTESIS	94
5	OBJETIVOS	96
5.1	Objetivos principales del estudio.	96
5.2	Objetivos secundarios del estudio	96
6	METODOLOGÍA	98

6.1	ÁMBITO DE ESTUDIO:	98
6.2	MEDIOS DISPONIBLES	98
6.3	SUJETOS DE ESTUDIO:	99
6.4	ESTUDIO DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS	101
6.5	ESTUDIO FARMACOCINÉTICO	101
6.6	ESTUDIO DE FÓRMULAS DE CURVAS ABREVIADAS.....	102
6.7	TESTS DE SINTOMATOLOGIA Y CALIDAD DE VIDA GASTROINTESTINAL	102
6.8	ANÁLISIS ESTADÍSTICO:.....	103
6.8.1	Objetivos principales del estudio:	103
6.8.2	Objetivos secundarios del estudio	106
6.9	CONSIDERACIONES ÉTICAS	107
6.9.1	Consideraciones generales.....	107
6.9.2	Consideraciones sobre las muestras	108
6.9.3	Consideraciones sobre los test de calidad de vida y sintomatología gastrointestinal:.....	108
6.10	Información a los participantes del estudio	109

7	RESULTADOS	111
7.1	Resultados de Farmacogenómica en nuestra población.....	111
7.1.1	Polimorfismo UGT1A9 T-275A y C2152T.....	111
7.2	Polimorfismo UGT1A9 T-275A y C2152T y tratamiento inmunosupresor. 112	
7.3	Polimorfismo UGT 1 A9 y evolución post-trasplante:.....	112
7.4	Rechazo agudo del injerto y polimorfismos	116
7.5	Resultados de la relacion entre las encuestas sobre intolerancia gastrointestinal y los polimorfismos UGT1A9 T-275A Y C2152T.....	119
7.5.1	RESULTADO DE GSRS	120
7.5.2	RESULTADO DEL TEST GIQLI	123
7.6	Resultado del estudio Farmacocinético según el SNP UGT1A9	124
7.6.1	Repetición de estudio farmacocinético	127
7.7	Resultados de la presencia del Polimorfismo UGT 1 A9 y otros efectos adversos del MPA.....	128
7.8	Fórmulas abreviadas para determinación del AUC _{0-12h} en pacientes tratados con EC-MPS y tacrólimus.	128

7.8.1	RESULTADOS DEL SUBESTUDIO DE FÓRMULAS ABREVIADAS PARA DETERMINACIÓN DEL AUC _{0-12h}	131
7.8.2	VALIDACION DE CURVAS DISEÑADAS PREVIAMENTE POR OTROS AUTORES.	141
8	DISCUSIÓN	144
8.1	Polimorfismo del Gen UGT y su impacto en el trasplante renal:	146
8.1.1	Frecuencia del SNP en nuestra población.....	146
8.1.2	Presencia del SNP y mortalidad del paciente.	146
8.1.3	Presencia del SNP y rechazo del injerto.	147
8.1.4	Presencia del SNP y supervivencia del injerto.....	148
8.1.5	Polimorfismos del gen UGT 1 A9 y efectos adversos gastrointestinales.....	149
8.2	Polimorfismos de UGT 1 A9 y farmacocinética del MPA.	151
8.3	Fórmulas de curva abreviadas para la monitorización de EC-MPS.	157
9	CONCLUSIONES	166
10	BIBLIOGRAFÍA	169
11	ANEXOS.....	197

11.1	TEST GIQLI	198
11.2	TEST GSRS	201
11.3	ANEXO III. CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	205
12	DIFUSIÓN DE LA TESIS	207
12.1	Publicaciones en revistas internacionales	207
12.2	Comunicaciones a Congresos.....	208

RESUMEN



1 RESUMEN

1.1 INTRODUCCIÓN

El ácido micofenólico (MPA) es el metabolito activo de la prodroga micofenolato mofetil (MMF), **uno de los principales inmunosupresores utilizados en el trasplante renal**. Sin embargo, el MMF presenta **frecuentemente efectos adversos gastrointestinales**, que en numerosas ocasiones obligan al médico a reducir la dosis e incluso a suspenderlo, con el consiguiente riesgo de pérdida del injerto y rechazo agudo que ello conlleva.

En el año 2002 se comercializó una nueva formulación de ácido micofenólico, el micofenolato sódico con recubrimiento entérico (EC-MPS; *myfortic®*). Fue diseñada para retrasar la liberación del principio activo, de forma que la liberación de ácido micofenólico se produce en el estómago en el caso de MMF, y en el intestino delgado en el del EC-MPS (a las dos horas de la toma). Ello teóricamente debería reducir la toxicidad gástrica.

A diferencia de otros inmunosupresores, no disponemos de una herramienta para su monitorización, ya que el manejo del MMF/EC-MPS es difícil en los pacientes con trasplante renal debido a dos factores: en primer lugar la **gran variabilidad interindividual**, así como a las complejas interacciones farmacológicas, y en segundo lugar, **el MPA posee una farmacocinética no lineal**, por lo que la determinación de niveles valle no es válido para monitorizar el MMF/EC-MPS, siendo la realización del área bajo la curva de doce

horas el único método fiable para estimar la concentración del fármaco, aunque este proceso sea laborioso y poco práctico en la rutina diaria. Sin embargo, es necesario conocer la concentración plasmática de MPA ya que **diferentes estudios han mostrado que unos niveles infraterapéuticos se asocian con mayor incidencia de rechazo agudo.**

Actualmente existen fórmulas abreviadas de extracción para la monitorización del MMF, es decir con menos puntos de extracción se puede extrapolar el área bajo la curva de doce horas del fármaco; sin embargo, dichas fórmulas no están desarrolladas para el EC-MPS.

Profundizando en las posibles causas de esa gran variabilidad interindividual al MPA, se pensó que los polimorfismos de los genes que codifican el complejo enzimático UGT (principal responsable del metabolismo y el transporte del MPA) podían ser los causantes de las distintas respuestas terapéuticas al MMF/EC-MPS, y que su análisis podía identificar a pacientes con mayor riesgo de rechazo, puesto que **la presencia del SNP UGT1A9 -275/-2152 se relaciona con una menor exposición al fármaco.** Sin embargo, diferentes estudios realizados al respecto, no observaron una asociación entre la presencia del polimorfismo y un mayor aumento en la incidencia de rechazo agudo, ni descenso en la supervivencia del injerto. Probablemente, **existen tantos factores implicados en el pronóstico del trasplante renal** (factores dependientes del donante, del receptor, evolución del injerto y del paciente en

el período postrasplante, medicaciones concomitantes) **que no parece suficiente que un solo polimorfismo pueda ser único indicador de la evolución a largo plazo del injerto renal.**

No obstante pensamos que, conocer el estado de **portador UGT1A9 -275/-2152 unido con la monitorización del MPA** en sangre, sería sumamente útil para una mejor adecuación de la dosis necesaria y por consiguiente, lograr unos niveles de MPA dentro de la ventana terapéutica deseada, para detectar pacientes con mayor riesgo de rechazo, prever la respuesta a cambios en la medicación inmunosupresora y prevenir posibles efectos adversos a largo plazo.

Este es el primer estudio que engloba la farmacocinética del MPA, la farmacogenómica y su repercusión clínica en trasplantados renales.

1.2 OBJETIVO

1. Detectar la asociación entre los polimorfismos de los genes que codifican para las enzimas UDP-glucuronosiltransferasa (UGT) y la farmacocinética de MMF y su posible relación con el desarrollo de efectos adversos gastrointestinales.

2. Desarrollar curvas abreviadas para la monitorización de EC-MPS.

1.3 MATERIAL Y MÉTODOS

A un total de 893 pacientes trasplantados renales estables en tratamiento con tacrolimus y MMF se les realizó la extracción de una muestra de plasma para estudio de los polimorfismos genéticos.

El impacto de los polimorfismos genéticos de los enzimas de biotransformación en el coeficiente concentración-dosis de dichos fármacos se analizó mediante un análisis de la varianza (ANOVA) si se cumplen las asunciones para su aplicación, o mediante un test de Kruskal-Wallis si no se cumplía la distribución normal. Se ajustó el nivel de significación para contrastes múltiples mediante el test de Bonferroni.

El estudio farmacocinético se realizó durante 12 horas con obtención de curvas en 13 puntos.

Para determinar las relaciones entre el AUC_{0-12h} y las diferentes concentraciones de MPA en los 13 puntos estudiados usamos la regresión lineal. Posteriormente se realizaron estudios de regresión múltiple para predecir una fórmula abreviada factible, de manera que a partir de 3 o 4 puntos aislados se pudiera predecir el AUC_{0-12h} . Este análisis se realizó con la siguiente fórmula de predicción: $AUC_{0-12h} = A_0 + A_1 \cdot C_1 + A_2 \cdot C_2 + \dots + A_n \cdot C_n$. Donde A_n son coeficientes y el número de muestras es variable. El criterio usado para definir la mayor regresión fue el valor r^2 . El grupo de validación se utilizó para testar la correlación entre el AUC_{0-12h} estimada con las estrategias de puntos limitados y el AUC_{0-12h} real medida.

Los síntomas gastrointestinales se analizaron con el uso de dos cuestionarios realizadas por el paciente (Gastrointestinal Symptom Rating Scale y Gastrointestinal Quality of Life Index).

1.4 RESULTADOS

El total de pacientes estudiados fue de 873. El tiempo mediano de evolución del trasplante renal fue de 91,8 meses (P25-75 46-146). Respecto a la frecuencia de los dos polimorfismos estudiados en nuestra población, encontramos el polimorfismo C-2152-T de la región promotora del gen UGT1A9 en 99 pacientes (95 fueron heterocigotos y 4 homocigotos) y el polimorfismo T275 en 108 pacientes (104 heterocigotos y 4 homocigotos).

Se realizó análisis de supervivencia en los trasplantes renales consecutivos que se llevaron a cabo entre el año 2004 y el 2013, puesto que en periodos anteriores un porcentaje alto de pacientes que habían perdido el injerto no habían sido tipados. Se pudieron observar diferencias en la incidencia de muerte del paciente con un resultado mayor entre los portadores del polimorfismo respecto de los no portadores (portador 2,1%; no portador 1%. $p= 0,001$).

Encontramos una mayor frecuencia de muerte por cáncer entre los portadores del polimorfismo, comparada con los no portadores, con una p estadísticamente significativa; en concreto presentaban una mayor incidencia acumulada de muertes a causa de tumores gastrointestinales.

La incidencia de rechazo agudo del injerto fue similar en la población, tuviera o no el polimorfismo T275A (33% en portadores vs 35,8% en no portadores) o el polimorfismo 2152 (33,1% en portadores vs 35% en no portadores).

No hallamos diferencias estadísticamente significativas entre la presencia o no del polimorfismo y el grado de sintomatología intestinales. Sin embargo, **el cuestionario de calidad de vida mejoraba significativamente en los pacientes con sintomatología digestiva a los que se les sustituía el MMF por EC-MPS, fueran o no portadores.**

Finalmente los pacientes con el SNP UGT1A9 y tratados con MMF presentaban una menor AUC_{0-12h} respecto a los que recibían tratamiento con EC-MPS, recibiendo dosis equipotentes, siendo la diferencia casi estadísticamente significativa.

Respecto a las fórmulas abreviadas observamos que los mejores fórmulas abreviadas obtenidos en el grupo de prueba fueron en los 3 y 4 puntos de tiempo con unas $AUC_{0-12 h} (m \cdot h \cdot L) = 15,99 + 0.87C1 h + 0.68C2 h + 7.85C4 h$ y un $AUC_{0-12 h} (mg \cdot h \cdot L) = 11,15 + 0.68C1 h + 0.45C1.5h + 0.57C2h + 8.16C4 h$, respectivamente.

Cuando estas fórmulas se pusieron a prueba en el grupo de validación, los resultados fueron aceptables: r^2 ajustada = 0,71, tendencia = -0.214 [intervalo de confianza (IC) del 95%: -7,91 a 7,48], precisión = 7,48 (IC del 95 %: 3,69 a 19,39) para 3 puntos de tiempo.

Y un r^2 ajustado = 0,76, tendencia = -1,48 (IC del 95 % : -8,23 a 5,27),
precisión = 7,68 (IC del 95% 4,23 a 13,50) para 4 puntos de tiempo .

1.5 CONCLUSIONES

-Los pacientes trasplantados de riñón en tratamiento con micofenolato mofetil en combinación con tacrolimus y portadores **del polimorfismo T-275 A y C-2152T del gen UGT1A9 presentan una exposición al MPA menor que aquellos receptores que no presentan el polimorfismo.**

-En presencia de este polimorfismo la farmacocinética del MPA es diferente según se trate al paciente con MMF o EC-MPS, obteniendo mayores áreas bajo la curva de MPA cuando se administra EC-MPS. Debido a la liberación más lenta del EC-MPS que compensaría un mayor metabolismo del fármaco por el polimorfismo.

-Aconsejamos el tratamiento con EC-MPS en los pacientes portadores del polimorfismo UGT1A9, ya que hemos objetivado una mejoría en la calidad de vida del paciente.

-No hemos detectado asociación entre el estado de portador del SNP con la presencia de una mayor sintomatología intestinal, ni con mayor incidencia de rechazo agudo del injerto ni con la supervivencia del injerto.

-En nuestra muestra hemos observado asociación estadísticamente significativa entre la presencia del polimorfismo y la presencia de tumores de origen digestivo.

-Hemos mostrado la relación entre el área bajo la curva en doce horas con la realización de dos tipos de fórmulas abreviadas. La primera se realizará con la determinación en la primera, segunda y cuarta hora desde la toma de la medicación. La segunda fórmula se realizará en la primera hora, primera hora y 30 minutos, segunda y cuarta hora; así se aporta la valoración más válida y fiable.

2 ABSTRACT

There are polymorphisms in genes encoding enzymes involved in metabolism and transport of immunosuppressive drugs that may be the cause of this great interindividual variability in therapeutic response and adverse effects of common immunosuppressive drugs used today, such as mycophenolate mofetil (MMF) and mycophenolate sodium (EC-MPS).

Management of MMF / EC-MPS is difficult in patients with renal transplantation due to the large intra- and interindividual variability. Complex drug interactions make also hard the measurement of the drug. Carrying out areas under the curve for twelve hours is a good method to estimate drug concentration, but laborious and impractical. The abbreviated formulas (LSS) for MMF have been developed for monitoring MMF, however, no LSS have been validated for enteric-coated mycophenolate sodium (EC-MPS) yet.

2.1 OBJECTIVES

1. To detect the association between polymorphisms of genes encoding enzymes UDP-glucuronosyltransferase (UGT) and the pharmacokinetics of MMF and its possible relationship to the development of gastrointestinal side effects.
2. To develop an LSS to measure the AUC_{0-12h} of mycophenolic acid in kidney recipients treated with tacrólimus and EC-MPS.

2.2 MATERIAL AND METHODS

893 kidney transplant patients with an stable renal function treated with tacrólimus and MMF were included in this studio. We collected plasma sample to extract the ADN for the study of genetic polymorphisms. The pharmacokinetic study were carried out collecting samples just before simultaneous administration of tacrólimus and EC-MPS and 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10 and twelve hours afterwards, to obtain curves in 13 points. Effects of gastrointestinal symptoms were analyzed using two test, performed by the patient (Scale Gastrointestinal Gastrointestinal symptoms and quality of LifeIndex).

To valídate the LSS for EC-MPS, thirteen serial blood samples were collected over 12 hours from 71 patients treated with tacrólimus and EC-MPS. Mycophenolic acid was measured in plasma using the enzyme-multiplied immunoassay (EMIT). LSS were developed and validated by multiple regression analysis using a 2-group method (test group, n = 47; validation group, n = 24)

2.3 RESULTS

The total number of patients studied was 873. The median time evolution of renal transplantation was 91.8 months (46-146 P25-75). We found polymorphism C-2152-T of the promoter region of the UGT1A9 gene in 99 patients (95 were heterozygous and 4 homozygous) and polymorphism T275 in 108 patients (104 heterozygotes and 4 homozygous).

The incidence of acute graft rejection were similar whether or not the T275A polymorphism were present (33% vs 35.8% carriers in noncarriers) and for C2152 polymorphism we observed similar results (33.1% vs 35% carriers in noncarriers).

Survival analysis was performed on consecutive renal transplants that took place between 2004 and 2013. We observed an increased incidence of death in carriers patients than in non- carriers (carrying 2.1% ; non-carrier 1 % $p = 0.001$)

We found a higher frequency of cancer among carriers of the polymorphism, compared to non- carriers, in particular they had a higher cumulative incidence of deaths from gastrointestinal cancer.

We found no statistical difference between the presence or absence of the polymorphism and the degree of gastrointestinal symptomatology. Although the related quality of life improved significantly in patients with gastrointestinal symptoms who were replaced to EC-MPS from MMF, were or not carriers.

Finally, patients with UGT1A9 SNP and MMF had lower AUC0-12h , compared to those receiving treatment with EC-MPS. This difference was statistically significant.

2.4 CONCLUSIONS:

We have not found an association between UGT 1A9 gene SNP and the presence of adverse effects on the graft (acute rejection, graft survival and gastrointestinal symptoms). However in patients carrying the gene polymorphism UGT1A 9 with gastrointestinal symptoms we have observed better tolerance to EC- MPS than to MMF with a consequent increase in the area under the curve.

An LSS using time points at C1h-C2h-C4h or C1h-C1.5h-C2h-C4h provides the most reliable and accurate estimation of the AUC_{0-12h} of mycophenolic acid in stable renal transplant recipients treated with EC-MPS and tacrólimus.

In our sample, we have observed an association between the presence of polymorphism and the presence of gastrointestinal cancer.

INTRODUCCIÓN



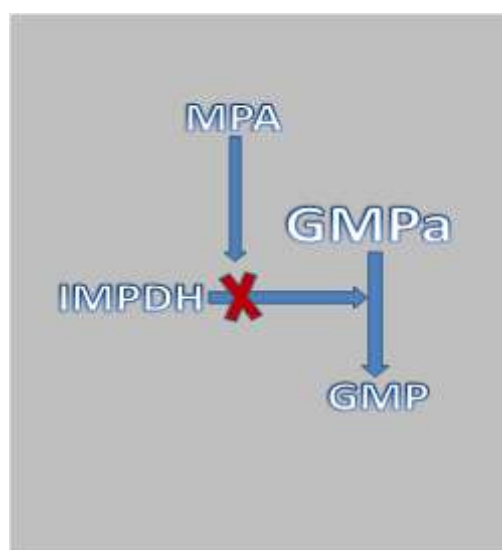
3 INTRODUCCIÓN.

3.1 Presentación del fármaco a estudio.

3.1.1 Mecanismo de acción del ácido micofenólico

El ácido micofenólico (MPA), es un producto derivado del hongo *penicillium brevicompactum*. Su actividad como antimetabolito fue descrita 1969, cuando se investigaba como potencial agente antiproliferativo en el campo de la oncología, pero no fue hasta el año 1980 en que Syntex lo desarrolla como inmunosupresor sumamente efectivo en la psoriasis. El micofenolato mofetil es el éster 2-morfolinoetílico del MPA. El MPA es un potente inhibidor, selectivo, no competitivo y reversible de la enzima inosinamonofosfato deshidrogenasa (IMPDH) reduciendo los niveles de monofosfato de guanosina (GMP). Las células, al estar deplecionadas de GMP, no pueden sintetizar trifosfato de guanosina (GTP) y deoxiguanosina trifosfato (d-GTP), y por lo tanto no pueden replicarse ¹ Figura 1.

Figura 1. Mecanismo de acción del MPA.



Los linfocitos requieren niveles adecuados de los nucleótidos purínicos guanosina y deoxiguanosina y niveles reducidos de adenosina y deoxiadenosina, para proliferar en respuesta a la estimulación antigénica. Estos nucleótidos se sintetizan en las células humanas a través de dos vías: la vía de novo y la vía de alterna o de rescate (fig. 2).

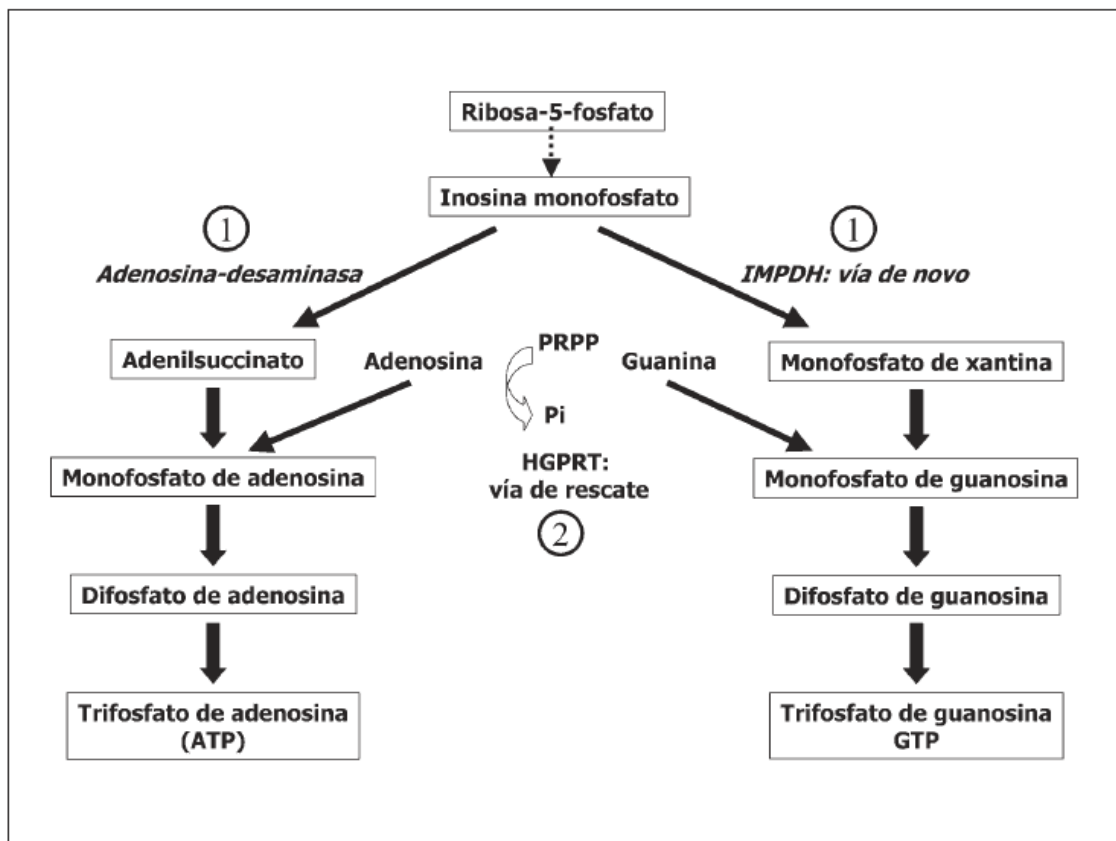


Fig. 2.—Inhibición de la proliferación linfocitaria inducida por ácido micofenólico.

1)Vía de novo. 2)Vía de rescate.

IMPDH=inosinamonofosfato deshidrogenasa;

PRPP=fosfo-ribosil-pirofosfato;

HGPRT= hipoxantina-guanina-fosfo-ribosiltransferasa.

En la **ruta de novo**, los nucleótidos se forman a partir del precursor inosina monofosfato. Sobre este precursor pueden actuar dos enzimas: 1) la IMPDH que actúa sobre el monofosfato de xantina y posteriormente en monofosfato de guanosina que llevará a la formación de GTP, y 2) la adenosina desaminasa que lo convierte en adenilsuccinato después en monofosfato de adenosina y posteriormente en trifosfato de adenosina (ATP) ²⁻⁴.

En la **vía alterna** se sintetizan purinas mediante el reciclado de bases purínicas generadas previamente, siendo independiente de la acción de la IMPDH y de la adenosina desaminasa.

Los linfocitos T y B no pueden utilizar la vía alterna, y dependen de la síntesis de novo de las purinas para su respuesta proliferativa al estímulo inmunológico y para suprimir la formación de anticuerpos por parte del linfocito B; ambos procesos intrínsecamente relacionados en el proceso de rechazo tanto celular como humoral, del trasplante de órgano sólido.

Debido a esta dependencia de la síntesis de novo de las purinas, el MPA tiene un efecto citostático más potente en los linfocitos que en otras células.

Hay dos isoformas de la IMPDH, la tipo I que se encuentra presente en los linfocitos en reposo y la tipo II que es la enzima predominante en los linfocitos activados. La IMPDH tipo II es aproximadamente cinco veces más sensible a la

inhibición por el MPA que la tipo I, aunque aún no está bien determinado el efecto de la misma.⁵

Esta inhibición de la IMPDH tiene las características de que es muy selectiva para los linfocitos y consiguientemente menos tóxica sobre las células hematopoyéticas y neutrófilos en comparación con los análogos nucleósidos (ribavirina, etc.), con el metrotexate y con la azatioprina, y además no es competitiva, lo cual confiere la ventaja de que el grado de inhibición no depende de la cantidad de sustrato (inosina monofosfato) como en los competitivos sino de la cantidad de inhibidor (MPA). La adenina y guanina desempeñan funciones esenciales en la transcripción génica, la síntesis proteica y el metabolismo celular. La inhibición de la IMPDH en los linfocitos causa un fallo en la transcripción de la fase G1 a la fase S, con lo que no proliferan en respuesta al antígeno.⁶ (Figura 3)

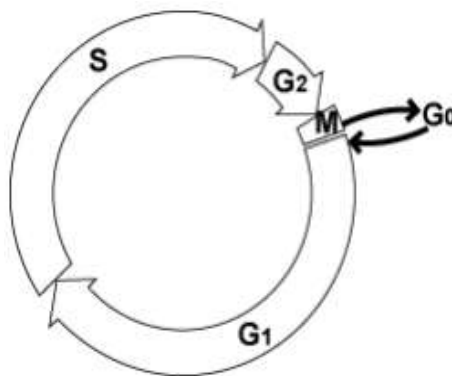


Figura 3. Ciclo celular.

G0= Las células dejan de dividirse y realizan su trabajo normal en el organismo.

G1 = Se sintetizan el RNA y las proteínas para la división.

S = Síntesis del ADN

G2 = Se forma el aparato de la mitosis.

M = Mitosis.

(Adaptado de Harvey Lodish. Biología Celular y Molecular. Edición: 7ª EAN: 9789500606264)

Además de esta acción sobre la proliferación linfocitaria, la deficiencia inducida en los nucleótidos guanosínicos por el MPA inhibe la transferencia de manosa y fructosa a las moléculas de adhesión glucoproteicas, como selectinas e integrinas. Las selectinas son necesarias para la unión mediada por integrinas del leucocito al endotelio del injerto. Por ello MPA puede interferir en esta unión y en el reclutamiento de leucocitos y monocitos en los tejidos donde se produce la **inflamación**. La depleción de GTP inducida por MPA también puede alterar otras funciones de los linfocitos T entre las que se incluyen la actividad de las proteínas G involucradas en las señales de transducción.

Además el MPA induce apoptosis linfocitaria y altera la expresión de marcadores de superficie celular (como CD25, CD134, CD11a, CD28 y CD71) y de citoquinas.⁷

3.2 Micofenolato mofetil en el trasplante renal.

Actualmente, el micofenolato mofetil (MMF) es uno de los principales inmunosupresores utilizados en trasplante de órgano sólido (se estima que en el 79% de los trasplantados renales, 48% de los trasplantados hepáticos y en el 75% de los trasplantados de corazón están en tratamiento con MMF). Distintos ensayos clínicos desarrollados hace más de veinte años demostraron la eficacia clínica del MMF en la prevención del rechazo agudo de trasplante; cabe nombrar tres ensayos esenciales: el Americano, el Europeo y el Tricontinental Renal Transplantation Study. Los tres coinciden en el tiempo, remontándonos

hasta el año 1995, al igual que en sus resultados en lo que a eficacia frente al rechazo comparado con el control se refiere, y detectando hasta un 50% menos de rechazo agudo.⁸⁻¹¹

Un análisis llevado a cabo con 495 pacientes trasplantados renales en el año 1995, el United States Renal Transplant Mycophenolate Study, probó el efecto beneficioso de este fármaco sobre la supervivencia del injerto y del paciente así como una disminución en la incidencia de rechazo agudo tardío y un impacto positivo en la función del injerto¹¹.

También informaron de que es el fármaco inmunosupresor más utilizado en el trasplante de novo (92,8%), seguido por tacrólimus (TAC) (84,9%) y la combinación de ambos fármacos es la más frecuente (80,4%)¹².

En España son varios los estudios multicéntricos para definir la seguridad del uso del MMF como inmunosupresor seguro; hay que destacar el Estudio Multicéntrico sobre Micofenolato Mofetil y Nefropatía Crónica del Injerto, llevado a cabo con 121 pacientes con nefropatía crónica del injerto diagnosticada mediante biopsia, con cifras de creatinina menor o igual a 3mg/dl, a los que se modifica la terapia inmunosupresora (59 con ciclosporina y esteroides y 62 pacientes con ciclosporina, esteroides y azatioprina), a un grupo se le asocia micofenolato y al otro se le sustituye azatioprina por micofenolato mofetilo. Se objetivó en ambos grupos una descenso en la caída de función renal de forma significativa¹³.

También hay que destacar el Grupo de Estudio Español del Trasplante Renal de Donante Añoso, con un estudio observacional realizado en 13 centros españoles, incluyendo 78 pacientes que reciben como tratamiento inmunosupresor daclizumab –Zenapax®, un anticuerpo monoclonal humanizado de la inmunoglobulina G, que se une al receptor CD25 expresado en linfocitos T activados, con alta afinidad para la interleuquina 2- en combinación con esteroides, MMF (2 g/día hasta el día 45) y tacrolimus. El tacrolimus se introdujo entre el 5º y el 7º día postrasplante, ajustado a niveles de predosis a 4-8 ng/mL. Se realizó un seguimiento de 12 meses, con una tasa de supervivencia del injerto y paciente óptima y un perfil de seguridad dentro de lo esperado¹⁴.

Posteriormente se amplió el estudio con el mismo diseño a 133 pacientes. La supervivencia del paciente y el injerto a los 12 meses fue del 97,7% y 96,1% respectivamente. La tasa de rechazo agudo fue del 13,5%, concluyendo que la pauta daclizumab y MMF con introducción tardía de tacrolimus a dosis bajas es una pauta segura para combatir el rechazo¹⁵.

Cabe mencionar que aunque el uso de corticoides e inhibidores de la calcineurina había sido el estándar para el trasplante renal, de todos es conocido los efectos adversos de los mismos.

Por este motivo, se realizaron ensayos clínicos con protocolos con medicamentos como el MMF para poder reducir su uso e incluso eliminar los

corticoides de tratamiento inmunosupresor a largo plazo, al igual que protocolos con pautas minimizadoras de inhibidores de la calcineurina. Hay que destacar el ensayo multicéntrico dirigido por Abramowicz con 170 pacientes con tratamiento de mantenimiento con ciclosporina y corticoides con o sin azatioprina entre el mes doce y 30 del postrasplante. Un grupo fue randomizado a suspender el tratamiento con ciclosporina y mantener el tratamiento con corticoides y micofenolato mofetil y el otro recibió micofenolato mofetil, ciclosporina y esteroides. Se observó mejoría en la función renal y del perfil lipídico en el grupo con la retirada del anticalcineurínico a los tres y los seis meses de observación, aunque también se objetivó un aumento en la incidencia de rechazo agudo a los seis meses en el grupo de retirada del anticalcineurínico comparado con el grupo de mantenimiento (10,6% vs 2,4%; $p=0,03$).¹⁶

En España es reseñable el trabajo llevado a cabo durante años por el grupo catalán liderado por el Dr. Grinyo, describiendo diferentes protocolos inmunosupresores, en los que la supresión completa del inhibidor de la calcineurina (CNI) se asociaba a una alta tasa de rechazo agudo o bien en el grupo que combinaba dosis elevadas de MMF, timoglobulina y esteroides, se observaba un alto porcentaje de infecciones oportunistas (un 50% de los pacientes del estudio).¹⁷ Por lo que el nuevo arsenal terapéutico ha dado un nuevo impulso en los regímenes ahorradores de CNI, sin llegar a suprimirlos

completamente, con una baja tasa de rechazo agudo, función renal aceptable y sin un aumento en el riesgo de rechazo crónico.¹⁸

Respecto a los estudios con pautas reductoras de corticoides, limitando el uso de esteroides para los primeros días del post-trasplante, Matas y colaboradores publicaron los datos de un ensayo donde se retiraban los esteroides en el día 5 después del trasplante en 51 pacientes. Recibieron como inducción globulina antitimocítica, y de mantenimiento recibieron MMF y ciclosporina. Al final del primer año la supervivencia del injerto libre de rechazo y la supervivencia de los pacientes fueron similares comparado con el grupo control histórico.¹⁹

Este mismo estudio tras tres años de seguimiento, llevado a cabo con 349 trasplantes, utilizando el mismo régimen de rápida retirada de esteroides, reportaron el 94% y el 92% de pacientes libres de rechazo agudo al final del primer y tercer año, respectivamente. La supervivencia del paciente, al igual que la supervivencia global del injerto fue excelente en comparación con los controles.²⁰

En otro estudio realizado por Vincenti y colaboradores, los pacientes con trasplante renal de novo eran asignados aleatoriamente a tres grupos, el primero no recibía esteroides (n = 112), el segundo recibía esteroides hasta el séptimo día (n = 115), y el tercero recibía una pauta de esteroides estándar (n=109). Todos recibían como tratamiento acompañante ciclosporina, micofenolato sódico con recubrimiento entérico (EC-MPS) y basiliximab

(Simulect®, anticuerpo monoclonal humanizado de la inmunoglobulina G, que se une al receptor CD25 expresado en linfocitos T activados, con alta afinidad para la interleuquina 2).

La incidencia a los 12 meses de rechazo agudo, pérdida del injerto o muerte fue significativamente menor en el grupo con pauta de esteroides estándar en comparación con los otros dos grupos. En concreto, la presencia de rechazo agudo confirmado por biopsia en el grupo con retirada total de esteroides fue del 36 %, y en el grupo con pauta estándar del 19,3% ($p=0,007$). La función renal fue similar en los tres grupos. La incidencia de diabetes postrasplante y alteración del perfil lipídico fue menor en los grupos de minimización y retirada total de esteroides en comparación con el grupo que había recibido una pauta estándar de esteroides. Finalmente concluía que los receptores de trasplante renal de bajo riesgo que recibían ciclosporina, EC-MPS y basiliximab, a los cuales se les retiraban los esteroides antes de finalizar la primera semana de trasplante, conseguían alcanzar la misma función renal al año que aquellos con un régimen de esteroides estándar. Por lo tanto recomendaban esta pauta antes que la del grupo con ausencia total de esteroides.²¹ Resultados similares a los del grupo de Gallon, quien además destaca en el grupo pacientes con esteroides de forma crónica, una mayor incidencia de diabetes e hiperlipidemia postrasplante en comparación con el otro sin esteroides.²²

Un meta-análisis de 6 ensayos con supresión de esteroides e inmunosupresión basada en MMF mostró que el riesgo de episodios de rechazo agudo después

de la eliminación de esteroides era 2,28 veces mayor que la observada en pacientes mantenidos con esteroides, pero esto no afectó la supervivencia del injerto a medio plazo. La reducción en el nivel de colesterol total fue significativa en el grupo de retirada de esteroides.²³

Finalmente menciono el estudio SYMPHONY por su trascendencia y por ser el más grande realizado hasta ahora con 1645 pacientes y cuyo objetivo era el de comparar durante un año los efectos de la inmunosupresión estándar con tres regímenes que incluían dosis bajas de inhibidores de la calcineurina, o que directamente los excluían, en pacientes con un trasplante renal de novo. El estudio pone de manifiesto como la combinación de MMF, dosis bajas de tacrólimus, corticosteroides y un tratamiento de inducción con un anticuerpo anti interleuquina-2, es la mejor combinación para prevenir el rechazo del injerto renal en pacientes trasplantados, maximizando la función y la supervivencia del injerto renal.²⁴

Por lo tanto, podríamos decir que el MMF es uno de los inmunosupresores imprescindibles actualmente en el trasplante renal, tanto por su efectividad para evitar el rechazo del injerto renal, como por su seguridad para poder reducir la dosis de otros inmunosupresores acompañantes como los esteroides o inhibidores de la calcineurina (con un mayor potencial tóxico a largo plazo).

Sin embargo y este es un problema importante, un alto porcentaje de pacientes presenta intolerancia al MMF por los efectos adversos gastrointestinales,

viéndose obligados al abandono temporal/indefinido o reducción del mismo (con el riesgo de rechazo que ello conlleva)^{25, 26}

Este efecto adverso merece la pena ser estudiado más profundamente, tanto por su frecuencia, como por las implicaciones respecto al injerto que puede tener a largo plazo (un alto porcentaje de pacientes con sintomatología digestiva, precisan la reducción, incluso la suspensión del MMF).

Por último hemos observado que el concepto de efecto adverso gastrointestinal varía mucho de unos estudios a otros, lo cual puede llevar al clínico a subestimarlos. Nos parece que una adecuada gradación de los mismos es fundamental para poder realizar un estudio preciso.

Para medir el grado de afectación digestiva Kleinman et al.²⁷ validaron el uso de dos escalas, la "Gastrointestinal Sympton Rating Scale" (**GSRS**) y la "Gastrointestinal Quality of Life Index" (**GIQLI**), con estas dos escalas podemos determinar la presencia y severidad de los síntomas gastrointestinales y su impacto en la calidad de vida en el trasplantado renal. El estudio observacional de Ekberg et.al²⁸ demostró con el test GSRS, una alta incidencia de sintomatología gastrointestinal en una población de trasplantados escandinavos que conllevaba un descenso en la calidad de vida de los pacientes, también determinó que los médicos responsables subestimaban estos síntomas en numerosas ocasiones.

El estudio CETRA (Complications Related to Gastroenteric Symptoms in Renal Transplant Patients), evaluó el efecto de la sintomatología gastrointestinal en una población de trasplantados renales italianos, estables y sin ninguna otra causa que justifique dicha clínica en un estudio prospectivo observacional, se entregaron ambos test, tanto de grado de afectación digestiva como el de calidad de vida a pacientes y médicos responsables de la evolución del trasplante renal, con unos resultados esperables respecto a la sintomatología digestiva con distintas pautas inmunosupresoras, pero con unos pobres resultados de los test de calidad de vida en pacientes con sintomatología digestiva. Y tanto en el test de calidad de vida como en el de grado de afectación de la sintomatología digestiva, destacaba una infraestimación por parte de sus médicos.²⁹

Una dosis inadecuada de MPA se asocia con un aumento del riesgo de rechazo agudo del trasplante. Estudios retrospectivos han demostrado que pacientes en tratamiento con MMF, en los que por distintos motivos se han reducido o suprimido el MMF, han presentado una mayor incidencia de rechazo agudo y pérdida del injerto ³⁰. El estudio de Bunnapradist et. Al.³¹ describe que **los pacientes con efectos adversos gastrointestinales y que reciben MMF son los que presentan una mayor incidencia de pérdida del injerto y rechazo agudo.** Además los pacientes con sintomatología digestiva **presentan más fallos en la adherencia al tratamiento, lo que perpetúa el riesgo de rechazo.**

3.3 Micofenolato sódico con recubrimiento entérico

En el año 2002 se comercializó una nueva fórmula de ácido micofenólico, el micofenolato sódico con recubrimiento entérico (EC-MPS; myfortic, Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland). La fórmula con cubierta entérica fue diseñada para retrasar la liberación del principio activo. De esta forma mientras que la concentración máxima plasmática (Tmax) de ácido micofenólico en el caso de MMF es de aproximadamente 0,8 horas, en la fórmula EC-MPS es de 2 horas. Además mientras que el pH de máxima liberación es de 4,9 para MMF, en el caso de EC-MPS está entre 6-6,8. Por las anteriores características, la liberación de ácido micofenólico se produce en el estómago en el caso de MMF y en el intestino delgado en el del EC-MPS. Ello teóricamente debería reducir la toxicidad gástrica, pero no parece conseguirlo en todos los casos.³²

El grupo de Budde³³ realizó un estudio multicéntrico de fase III, randomizado, doble ciego de un año de duración en el que trasplantes renales estables de al menos de 1 mes de evolución y bajo tratamiento con ciclosporina (CsA) y MMF (con o sin esteroides) fueron randomizados en 2 grupos: uno continuaba tratamiento con MMF, aquellos sin sintomatología digestiva (n = 163) y otro con sintomatología digestiva de leve, moderado grado y severo en relación a la toma de MMF, en los que se sustituyó por EC-MPS (n= 159).

El objetivo primario del estudio era comparar la incidencia de efectos adversos gastrointestinales y hematológicos a 3 meses y valorar si pacientes estables en tratamiento con MMF podían ser convertidos de manera segura a EC-MPS. La incidencia de efectos adversos gastrointestinales fue similar a los 3 y 12 meses de iniciado el estudio. Se realizó también un análisis sobre el grado de aumento de la severidad de los síntomas gastrointestinales respecto a la situación que presentaba el paciente en el momento de la inclusión en el estudio, sin objetivar diferencias entre ambos grupos. El porcentaje de infecciones serias fue menor en el grupo cambiado a EC-MPS respecto al que continuaba con MMF (8,8 vs 16%; $p < 0,05$). No hubo diferencias en las variables de eficacia de ambos tratamientos.

Son varios los estudios para comparar la eficacia de ambos fármacos. El ya clásico y pionero de Salvadori y cols.³⁴ que consistió en un estudio multicéntrico de fase III doble-ciego, aleatorizado, de grupos paralelos con 12 meses de seguimiento en el que se comparaba la eficacia y seguridad de EC-MPS versus MMF en pacientes trasplantados renales de novo. El objetivo primario de este estudio era la equivalencia terapéutica medida a través de variables de eficacia (rechazo agudo comprobado por biopsia, pérdida del injerto, muerte y pérdida de seguimiento) entre ambos fármacos. Se incluyeron 423 pacientes que fueron randomizados pre-trasplante para recibir MMF ($n = 210$) o EC-MPS ($n = 213$). El tratamiento inmunosupresor asociado fue ciclosporina y esteroides (según la práctica local), como terapia de inducción se mantuvo la habitual de cada

centro (se entiende por terapia de inducción al administrado antes e inmediatamente después del trasplante, pues es cuando el riesgo de rechazo es máximo, en muchos casos la inmunosupresión inicial consiste simplemente en dosis más elevadas de fármacos que posteriormente van a utilizarse en el tratamiento de mantenimiento o en preparados de anticuerpos anti linfocitos T).

No hubo diferencias significativas en el fallo de eficacia a los 12 meses (28,1% en el grupo MMF vs 26,3% en el grupo EC-MPS) indicando por lo tanto la equivalencia terapéutica entre ambos fármacos. La incidencia de rechazo agudo probado por biopsia fue similar (24,3% en el grupo MMF vs 22,5% en el grupo EC-MPS) siendo también comparable la gradación del rechazo. En el grupo que recibió tratamiento con MMF fue mayor el porcentaje de pacientes que presentaron rechazo severo (grado III) aunque las cifras no alcanzaron significación estadística (9,8% en el grupo MMF vs 2,1% en el grupo EC-MPS).

La incidencia de efectos adversos fue comparable en ambos grupos siendo la mayoría de ellos leves o moderados. Los efectos adversos atribuidos a ECMPS fueron 53,1% vs 60,5 atribuidos a MMF ($p = ns$). El porcentaje de efectos adversos serios y severos fue similar. La incidencia de infecciones graves fue de 22,1 en EC-MPS vs 27,1% en MMF ($p = ns$).

La aparición de efectos adversos gastrointestinales requirió la modificación en la dosis en ambos fármacos en un porcentaje similar (15% en EC-MPS vs 19,5%

en MMF; $p = ns$). Los efectos adversos hematológicos fueron semejantes en ambos grupos. Estos resultados llevaron a concluir que ECMPS y MMF eran fármacos terapéuticamente equipotentes en trasplantes renales de novo, con un perfil de seguridad similar.

El grupo de estudio PROGRIS³⁵ realizó un estudio multicéntrico de fase III, randomizado, doble ciego de un año de duración en el que trasplantes renales estables de al menos 1 mes de evolución y bajo tratamiento con tacrólimus/ciclosporina y MMF (con o sin esteroides) fueron randomizados en 2 grupos: cohorte A, grupo con sintomatología digestiva de leve, moderado grado y severo en relación a la toma de MMF, en los que se sustituyó este por EC-MPS ($n = 177$) y cohorte B, el que no presentaba clínica digestiva y continuaba tratamiento con MMF ($n = 101$).

Para valorar el grado de afectación digestiva, los pacientes en ambos grupos eran sometidos a los test Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS), Gastrointestinal Quality of Life Index (GIQLI) y Psychological General Wellbeing Index (PGWBI), tanto en la visita basal como en la visita 2 realizada a las cuatro-seis semanas. Las puntuaciones de los test eran significativamente peores en la visita basal en la cohorte A, comparado con la cohorte B, pero esto cambiaba radicalmente al hacer el cambio a EC-MPS, ya que las puntuaciones realizados en la visita 2 mejoraban de una forma muy significativa ($p < 0.0001$). En la cohorte B no se observaron cambios significativos.

El grupo de estudio MYVIDA³⁶ realizó un estudio multicéntrico de fase III, randomizado y prospectivo de tres meses de duración en el que 115 trasplantes renales estables de al menos 4 meses de evolución, y con sintomatología gastrointestinal diversa y de distinta intensidad debido al uso de MMF (todos los pacientes fueron sometidos a los test, GSRS, GIQLI y Psychological General Well-Being Index), fueron randomizados en 2 grupos: uno en tratamiento con MMF (n = 54) y el otro con EC-MPS (n = 59) a dosis equimolares de ambos fármacos. Todos los pacientes presentaban unas puntuaciones basales similares en los distintos tests sin diferencias estadísticas significativas. En ambos grupos se intentó aumentar la dosis de los fármacos correspondientes, para así comparar la tolerancia a una mayor dosis de MPA en pacientes con intolerancia digestiva.

A las doce semanas, las medias obtenidas con el test GSRS eran más satisfactorias en el grupo de EC-MPS versus el grupo MMF (es decir menor puntuación en el test de sintomatología intestinal). Al igual que una mejora en la puntuación los test de calidad de vida (GIQLI) y Psychological General Well-Being Index (es decir una mayor puntuación para los test de calidad de vida) en el grupo cambiado a EC-MPS).

También observaron un mayor porcentaje de pacientes con mejor tolerancia digestiva a dosis más altas de EC-MPS que a MMF.

El estudio español MIDATA es un estudio prospectivo y multicéntrico, que trató de analizar el beneficio clínico del cambio de MMF a EC-MPS entre 726 receptores de trasplante renal. Se recogieron datos que incluían las dosis y concentraciones basales de ácido micofenólico (MPA) y los inhibidores de la calcineurina, la función renal y datos relacionados con los eventos adversos. Los tiempos de recogida fueron: a los 3 y 6 meses antes de la conversión, en el momento del cambio a EC-MPS y 1, 3, 6 y 12 meses tras el cambio. Los datos preliminares mostraron que tras el cambio a EC-MPS hubo un aumento en los niveles séricos MPA ($p < 0,01$) y una reducción en las dosis de CNI. También hubo una mejora significativa en la sintomatología digestiva después de la conversión de MMF a EC-MPS. El uso de dosis más bajas de la CNI y mejor tolerabilidad de EC-MPS podrían ser las causas subyacentes de la mejoría de la función renal.³⁷

Bolin et al. en el grupo MYTIME³⁸, realizaron un estudio multicéntrico longitudinal, prospectivo de tres meses de duración en el que 728 trasplantes renales estables de al menos de 4 meses de evolución y con sintomatología gastrointestinal en tratamiento con ciclosporina o tacrólimus y con o sin esteroides. Todos los pacientes fueron convertidos de MMF a dosis equimolares de EC-MPS, se dividieron en dos grupos a su vez, según estuvieran en tratamiento con tacrólimus o ciclosporina, y todos fueron sometidos al test GSRS en el primer mes de cambio y al tercero. Los resultados observados eran estadísticamente significativos y se objetivó una mejoría de la sintomatología

digestiva al primer mes y al tercer mes del cambio a EC-MPS, independientemente del inmunosupresor acompañante (tacrólimus/ciclosporina).

Por lo tanto, podemos decir que **el EC-MPS es un inmunosupresor con la misma eficacia antirechazo que el MMF, y que aunque los resultados de los estudios no son definitivos en cuanto a mejoría de los efectos adversos digestivos, parece que hay una mejor tolerancia digestiva a dosis más elevadas de EC-MPS que de MMF.**

Otro aspecto del EC-MPS que se desarrollará más adelante, está en relación a su monitorización. Así como para el MMF se han descrito multitud de estudios respecto a su farmacocinética y sobre la realización de curvas abreviadas para facilitar su medición en la práctica clínica, en el caso del EC-MPS, son muy pocos los estudios sobre su farmacocinética, al igual que la ausencia de una fórmula abreviada y precisa para su monitorización; paradójicamente hay que destacar que el uso del EC-MPS es cada día mayor en comparación con el del MMF.

3.4 Farmacocinética

3.4.1 Absorción y metabolismo

El ácido micofenólico (MPA) posee una biodisponibilidad que es relativamente baja, por ello se administra como un profármaco en forma de micofenolato sódico o bien como micofenolato mofetil (MMF), un éster morfolino.

Desdoblándose la unión éster, el profármaco MMF se metaboliza rápidamente al compuesto activo, el ácido micofenólico. Figura 4.

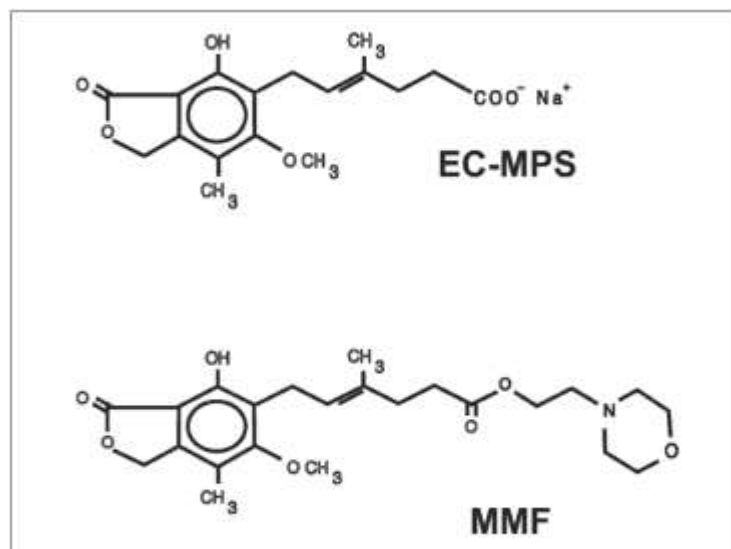


Figura 4. —Estructura química de micofenolato sódico con cubierta entérica (EC-MPS) y de micofenolato mofetil (MMF).

El MMF se **absorbe** rápidamente en el tracto gastrointestinal y posteriormente sufre un proceso de deesterificación para convertirse finalmente en MPA. Es por esto que después de la administración oral no se detecta MMF en plasma, ya que se encuentra en forma de MPA.

La biodisponibilidad del fármaco es del 94%, la absorción es rápida y completa, observándose en voluntarios sanos que la C_{max} se alcanza 1 hora después de la administración de la dosis. Puede haber un pico secundario de reabsorción entre las 6 y 12 horas después de la dosis, debido a la circulación

enterohepática del principal metabolito, el derivado glucurónido MPAG, que se hidroliza a ácido micofenólico por acción de la b-glucuronidasa de la flora intestinal y se puede volver a reabsorber, Figura 5.



Figura 5. Dibujo ilustrativo de la circulación enterohepática.

Selkurt E. (1986). Fisiología. Buenos Aires, Argentina: El Ateneo

Aunque cerca del 30% de la dosis administrada se excreta en la bilis como derivado glucurónido MPAG, en pacientes con trasplante hepático no hay diferencias respecto al área bajo la curva (AUC) o nivel predosis del ácido

micofenólico cuando hay un drenaje externo de la bilis por el tubo T o cuando la bilis vierte al intestino, indicando que la circulación enterohepática del MPAG no varía en ese período.

Cuando se administra MMF 30 minutos después de un desayuno rico en grasa, no hay diferencia en el área bajo la curva de ácido micofenólico respecto a cuando se administra en ayunas; sin embargo la concentración máxima plasmática (Cmax) disminuyó un 25%, lo que se correlaciona con el retraso en el vaciamiento gástrico que se produce cuando hay alimento.

El ácido micofenólico se une a la albúmina en un 98%, quedando un 2% de fármaco libre. La actividad inhibidora del ácido micofenólico sobre la IMPDH (Inosinamonofosfato deshidrogenasa) es directamente proporcional a la fracción libre, que es la farmacológicamente activa.

En la disfunción renal la fracción libre de MPA puede estar aumentada, al igual que cuando la albúmina está disminuida y también cuando aumenta la concentración de MPAG, pues compiten ambas por la unión a la albúmina. El aumento de urea, y el pH ácido también desplazarían al ácido micofenólico de su unión a la albúmina quedando un mayor porcentaje de fármaco libre, lo que puede dar lugar a una mayor inmunosupresión.³⁹

El ácido micofenólico se **metaboliza** principalmente en el hígado, aunque también se ha observado formación del derivado glucurónico en las células tubulares renales y en el tracto gastrointestinal.

Se glucuroniza por la uridindifosfato (UDP)-glucuroniltransferasa dando lugar a dos metabolitos, un derivado glucurónico ácido, el MPAG que es mayoritario y farmacológicamente inactivo, y otro, derivado acilglucurónico, M2 que es farmacológicamente activo⁴⁰. Por la acción de la UDP- glucosiltransferasa obtenemos un conjugado 7-O-glucósido identificado como M1 y sin actividad inmunosupresora. También se ha encontrado otro metabolito, M3, en cantidades muy pequeñas, y que es producto de la metabolización por el sistema microsomal CYP 3A4. Figura 6.

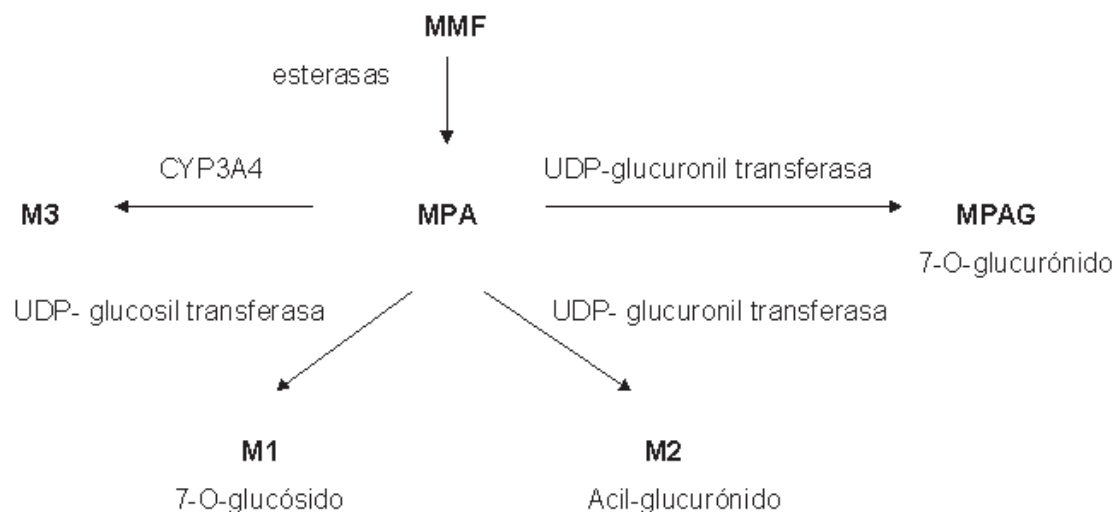


Figura 6. Metabolismo del micofenolato mofetil.

Por la implicación con el estudio que vamos a realizar, merece la pena profundizar en la explicación de complejo enzimático uridindifosfato (UDP)-glucuroniltransferasa (UGT), se encuentra principalmente en hígado, riñón y tracto gastrointestinal y es responsable principal del paso de MPA a la forma inactiva MPAG fundamentalmente por la UDP-glucuronosiltransferasa 1A9 (UGT1A9) ^{41, 42}, pero también por otras enzimas de la superfamilia de las UGT1A9⁴³. La UGT2B7, principalmente activa en el hígado, es la responsable de la generación del metabolito activo AcMPAG⁴², dicho metabolito es un potencial inductor en la expresión del ARN mensajero de citoquinas en los leucocitos⁴⁰, lo cual ha sido asociado con los efectos secundarios gastrointestinales de MMF.

La UGT1A8 se localiza fundamentalmente en el tracto gastrointestinal y también actúa en el metabolismo y en el efecto del primer paso de MPA⁴³. En circunstancias normales (no inducida) la UGT1A9 es responsable de aproximadamente el 40-50% de la producción intestinal de MPAG.⁴²

Tras la glucuronidación, MPAG es excretado en la bilis mediante los transportadores de los aniones orgánicos (OATs). La excreción biliar del MPAG y posterior reabsorción requiere diversos mecanismos de transporte entre los que se incluyen los polipéptidos transportadores de aniones orgánicos y proteínas relacionadas con la multirresistencia a drogas (MRP2), así como la actividad de las UGTs intestinales⁴⁴. MPAG es convertido a MPA en la luz intestinal y reabsorbido a través de la circulación enterohepática, este proceso es

responsable del 10-60% de la exposición total a MPA y se refleja como un segundo pico en la curva tiempo-dependiente de concentración del fármaco. El MPA se une en un 97-99% y el MPAG en un 82% a las proteínas plasmáticas, por lo que la filtración glomerular no puede explicar el aclaramiento total de MPA o MPAG. Se asume que existe una activa secreción tubular y, dado que MRP2 está presente en la membrana apical de las células tubulares proximales⁴⁵, este transportador puede estar también envuelto en la excreción renal de MPAG⁴⁴.

Respecto a su **eliminación**, tras la administración por vía oral de micofenolato mofetil radiomarcado, la recuperación de la dosis administrada fue completa: un 93% de la dosis se recuperó en la orina y un 6% en las heces. La cantidad del fármaco que se excreta en forma de MPA con la orina es desdeñable (< 1% de la dosis). La mayor parte (alrededor del 87%) de la dosis administrada se excreta por la orina en forma de MPAG.

3.4.2 Interacciones en la absorción con otros fármacos.

Hay un escaso número de interacciones descritas hasta el momento⁴⁶ y algunas de ellas contradictorias. A continuación pasamos a enumerar diversas interacciones descritas con la absorción, unión a proteínas y circulación enterohepática de ácido micofenólico, así como la interacción de algunos fármacos con el nivel de MPAG.

El uso concomitante de fármacos con alta afinidad de unión a las proteínas plasmáticas puede alterar los niveles de MPA. El salicilato y los niveles elevados de MPAG pueden desplazar al ácido micofenólico de su unión con la albúmina por lo que puede haber mayor efecto inmunosupresor.

Todas las medicaciones que alteran la flora intestinal pueden interaccionar con MPA al alterar la circulación enterohepática; un ejemplo típico es el de los antibióticos, al reducir la flora intestinal, pueden inhibir el paso de MPAG a ácido micofenólico que realizan las bacterias intestinales, por lo que los niveles de ácido micofenólico estarán más bajos al no haber circulación enterohepática.

Fármacos que se eliminan por vía renal como aciclovir y ganciclovir pueden aumentar los niveles de MPAG debido a su competición por la secreción tubular renal, aumentando los niveles del ácido micofenólico libre.

Es de especial interés conocer las posibles interacciones del MMF con el tacrólimus o la ciclosporina, al ser una combinación inmunosupresora muy utilizada en la actualidad.

Zucker y col. (1997, 1999) realizaron estudios multicéntricos en pacientes trasplantados renales tratados con CsA y MMF versus los tratados con TRL y MMF, el resultado de dicho estudio puso de manifiesto que las concentraciones de MPA eran significativamente superiores en los pacientes que recibían tacrólimus, por la inhibición que produce el tacrólimus sobre la enzima UDP-glucuronil transferasa. Al inhibir la glucuronización del MPA, se produce una

menor concentración de MPAG y un aumento de las concentraciones plasmáticas del MPA para una misma dosis administrada de MMF.^{47, 48}

A la inversa, se desconoce el mecanismo de acción mediante el cual el MPA produce un incremento del valor del AUC de tacrólimus, aumentando la acción inmunosupresora del fármaco para una misma dosis administrada. Se cree que la alta afinidad de ambos fármacos por las proteínas plasmáticas podría jugar un papel en el aumento del fármaco activo en sangre.

Posteriormente Smak Gregoor y col (1999) realizan otro estudio en el que se observa que el inmunosupresor que realmente altera los niveles del MPA era la ciclosporina. El estudio se realiza con tres grupos, todos recibiendo la misma dosis de MMF (un gramo cada doce horas), el primero es el grupo de pacientes tratados con MMF y prednisona, el segundo con tacrólimus y MMF y el tercero con ciclosporina y MMF. Los resultados demostraron que los pacientes tratados con MMF y prednisona tienen concentraciones de MPA similares a los que reciben TRL y MMF, en cambio el grupo de pacientes tratados con CsA y MMF son los que presentan unas concentraciones de MPA significativamente más bajas respecto a los dos subgrupos previamente mencionados. La razón de dicha interacción pudiera ser que la ciclosporina actúa inhibiendo la actividad de la proteína reguladora de transporte MPR2, disminuyendo la presencia del MPAG en la bilis y, por lo tanto, disminuyendo la formación de MPA a partir del

mismo. Finalmente el resultado sería una menor concentración de MPA y una mayor concentración sanguínea de MPAG.⁴⁹

La administración concomitante de MMF o EC-MPS con antiácidos de magnesio y aluminio produjo una disminución del 25% de la C_{max} y del 37% en la AUC_{0-24h} por lo que el fabricante recomienda que se evite su asociación.

Los quelantes de ácidos biliares como colestiramina reducen la absorción intestinal y la recirculación enterohepática de MPA, reduciendo por lo tanto la biodisponibilidad del fármaco y el segundo pico de concentración sanguínea.

Aun son necesarios estudios que demuestren que estas interacciones que se han publicado con MMF existen con EC-MPS.

3.4.3 Dosificación y Monitorización

-3.4.3.1 Dosificación.

Dosificación del Micofenolato Mofetil.

Las directrices del fabricante para la medicación con MMF son estándar para todos los receptores de riñón: MMF de 1 gramo dos veces al día.

(Roche information. Disponible en

http://www.gene.com/download/pdf/cellcept_prescribing.pdf).

-Dosificación del micofenolato sódico.

Las directrices del fabricante para el EC-MPS en trasplantados renales son de 720mg dos veces al día. (Novartis information. Disponible en

<http://www.pharma.us.novartis.com/product/pi/pdf/myfortic.pdf>)

-3.4.3.2 Monitorización.

En el área del trasplante se utilizan drogas generalmente con ventanas terapéuticas estrechas y entre las que se producen interacciones farmacocinéticas significativas y debido a que la exposición a MPA se caracteriza por una gran variabilidad inter e intraindividual que cambia a lo largo del tiempo⁵⁰, la farmacocinética resulta indispensable en la evaluación de la biodisponibilidad del fármaco⁵¹.

Por lo tanto, un fármaco con una importancia para el injerto como el MMF debe ser monitorizado adecuadamente para encontrar la dosis óptima, pero dicha monitorización es un tema complicado y controvertido, que ha generado múltiples estudios. Prácticamente desde su aparición se recomendó su monitorización⁵²⁻⁵⁴. Además distintos estudios farmacocinéticos han mostrado un riesgo aumentado de rechazo agudo en pacientes con baja exposición a MPA, sugiriendo que la eficacia puede mejorar ajustando las dosis en base a las concentraciones plasmáticas. Como mostraremos posteriormente, al ser un fármaco con una farmacocinética no lineal, la determinación de niveles valle no es una buena herramienta para monitorizar el MMF (a diferencia de los anticalcineurínicos). A continuación describiré los estudios más importantes respecto a la monitorización del MMF y su papel en la aparición de rechazo y efectos adversos derivados del fármaco. Uno de los primeros estudios controlados se remonta al año 1999, cuando Van Gelder⁵⁵ en un estudio doble

ciego, aleatorizado, prospectivo, realizado en 150 pacientes trasplantados renales en tratamiento con ciclosporina y prednisona, reciben MMF en función de tres objetivos distintos, obtener unos valores de MPA AUC de 16,1, 32,2, y 60,6 microg x hr/ml, durante los primeros 6 meses de trasplante. Los pacientes con un AUC de MPA en el rango de 32,2-60,6 mg•h/L tuvieron una menor frecuencia de rechazos (con biopsia del injerto diagnóstica) que los pacientes con un valor de AUC de MPA de 16,6 mg • h/L.

Se observaron resultados similares en las investigaciones posteriores en adultos y en niños que recibieron ciclosporina y MMF. Un estudio multicéntrico retrospectivo alemán con niños portadores de trasplante renal, reveló un incremento del número de rechazos agudos durante las primeras 3 semanas después del trasplante en pacientes con valores de AUC menores a 30mg.h/L.⁵⁶

La mayoría de los rechazos agudos también se asociaron con concentraciones de AMP predosis de 1 mg/L, o menos. Respecto a cuál de los dos indicadores fue más preciso a la hora de detectar un rechazo agudo, se observó que la asociación entre la AUC del MPA era estadísticamente muy significativa (p 0,001) y la asociación entre la concentración predosis del fármaco y el rechazo fue también significativa (p 0,021), aunque de menor fuerza estadística.^{53, 55, 57}

En resumen, podríamos hablar razonablemente de un rango “seguro” para evitar el rechazo del injerto de unos valores del área bajo la curva de MPA (AUC) entre 30-60 mg/L por hora.

Sin embargo, **no está tan claro que exista una asociación entre una estrecha monitorización del MPA y la presencia de efectos adversos.**

Se ha observado una relación directamente proporcional entre la dosis de MMF y la presencia de efectos adversos, pero no tanto con la concentración del AUC,

Debemos mencionar en este punto, dos estudios realizados hace casi 10 años, que supusieron un antes y un después en lo que a efectividad en la práctica de la realización de curvas de MPA.

El estudio FDCC (The Fixed-dose Concentration-Controlled Trial), aleatorio, multicéntrico, realizado con 901 pacientes randomizados a dos grupos, uno (n:449) que recibiría una dosis fija de MMF y otro grupo (n: 452), cuyo objetivo de la exposición sería de 45 mg.h/L, que recibiría la dosis correspondiente al objetivo fijado controlado periódicamente mediante el AUC. Un 54% recibirían como tratamiento inmunosupresor acompañante ciclosporina y un 46% recibirían tacrólimus.

El objetivo primario del estudio fue el diagnóstico de fracaso del tratamiento, entendido como rechazo agudo confirmado por biopsia [BPAR], pérdida del injerto, muerte, o la interrupción MMF a los 12 meses postrasplante. Los resultados fueron sorprendentes ya que la exposición de ambos grupos a MPA fueron similares en la mayoría de los puntos de tiempo, incluso en el grupo con dosis ajustada a niveles el AUC, estaba por debajo de 30 mg.h / L en el 37,3% de los pacientes en el día 3 postrasplante (se ha remarcado que hubo una

negativa por parte de sus médicos a aumentar la dosis de MMF, lo cual pudo jugar un papel en dicha distocia). No hubo diferencias en la incidencia de fracaso del tratamiento (25,6% frente a 25,7 %, $p = 0,81$) o BPAR (14,9% vs. 15,5%, $p > 0,05$) entre los grupos de concentración controlado y el de dosis fijas, respectivamente (Tabla 1). Lo que hemos aprendido de este estudio es que existe una relación significativa entre el área bajo la curva $<30\text{mg.h/l}$ en el día 3 y la incidencia de rechazo agudo en el primer mes postrasplante y que se mantiene hasta el primer año.

Tabla 1. Resultados del estudio FDCC. CC: grupo con dosis variable dependiendo de concentración. FD: grupo con dosis fija de MMF.

	CC n=449	FD n=452
Tratamiento Fallido	115(25,6%)	116(25,7%)
Rechazo Agudo Probado con Biopsia*	66 (14,7%)	66 (14,6%)
Pérdida del Injerto	12 (2,7%)	16 (4,2%)
Muerte	11 (2,4%)	6 (1,3%)
Suspensión del MMF	26 (5,8%)	25 (5,5%)

* Rechazo Agudo Probado con Biopsia: En pacientes en tratamiento con CSA = 17% y con TRL = 11,9%

Probablemente la causa de no encontrar diferencias en la incidencia de fracaso del tratamiento entre los grupos con mediciones controladas de MPA y el de dosis fijas, fue en parte porque los médicos parecían reacios a aumentar las dosis de MMF en el grupo de pacientes con dosis ajustadas a AUC. Otro dato interesante en base a los resultados farmacocinéticos, era que las AUC eran diferentes según el anticalcineurínico asociado. Se objetivó que los pacientes en tratamiento con ciclosporina presentaban AUC menores que las de los pacientes en tratamiento con tacrólimus (AUC mayor a 30mg.h/L el tercer día en un 51,2% frente al 76,2% del subgrupo de tacrólimus), el autor aconsejaba iniciar tratamiento con 1000mg de MMF cada doce horas si el tratamiento acompañante era tacrólimus; y 1500mg de MMF cada 12 horas si el tratamiento adyuvante era ciclosporina.⁵⁸

Hay un segundo estudio similar a éste: el Apomygre, pequeño estudio francés con sólo 137 pacientes (todos tratados con ciclosporina, MMF, esteroides y Simulect®) que fueron randomizados en dos grupos, uno con toma de muestras para AUC (en este caso el objetivo de AUC de 40 ug.h/mL), el otro al grupo con dosis fija, con MMF 1 g dos veces al día. Se hizo la monitorización con el mismo método del estudio anterior, comenzando los días 7 y 14, y meses 1, 3, 6 y 12. El diseño fue similar al del FDCC. Los resultados obtenidos son que la monitorización aumenta significativamente la eficacia del tratamiento (menor incidencia de rechazo agudo), aunque el costo sea una tasa mayor de

infecciones virales, y que es preciso incrementar las dosis de MMF para una mejor eficacia.⁵⁹

La evidencia plantea que es útil usar dosis de MPA más altas que las que se recomienda habitualmente en el inmediato postrasplante en pacientes tratados con CsA. Este procedimiento ya se había intentado, pero la tolerancia a altas dosis de MMF por tiempos prolongados se vio limitada por problemas gastrointestinales. Los datos dan a entender que un régimen inicial intensivo de MPA podría mejorar los niveles y los resultados en forma equivalente a la monitorización terapéutica de fármacos. Los problemas de tolerancia ocurrieron cuando la exposición sobrepasó el nivel de 80mg.h./l.

Posteriormente Kuypers realiza un nuevo estudio cuyo objetivo sería detectar la asociación entre los efectos adversos del MMF y las AUC de MPA. El motivo del mismo es que los estudios FDCC y Apomygre no detectaron ninguna asociación de las AUC con la sintomatología intestinal por varios problemas de diseño. El primer problema es que no están claramente definidos los efectos adversos intestinales, para ello se plantean conceptos mucho mas concretos que en los estudios previos. Segundo, critica que las monitorizaciones de MPA en los otros dos estudios se realizaron con curvas abreviadas (a las 2 horas), para ello aumenta el número de muestras en cada determinación a cinco, y utiliza como inmunosupresor acompañante el tacrólimus, mientras que los previos se realizaron mayoritariamente con ciclosporina (actualmente mucho menos

utilizada). Con estas premisas realiza un estudio clínico con 100 pacientes trasplantados renales en tratamiento con tacrólimus y micofenolato mofetil, con un seguimiento de 5 años, en los que se midió la exposición al MPA utilizando mediciones AUC abreviados (5 muestras) a los 7 días, 6 semanas, 3 meses, 1, 3 y 5 años después del trasplante. Los médicos responsables de los pacientes desconocían los resultados de estas mediciones y los ajustes de la dosis de MMF se basaban en indicaciones clínicas (por ejemplo, leucopenia persistente, diarrea sin fiebre crónica, infección por poliomavirus BK del aloinjerto renal).

Sin embargo los resultados son muy semejantes a los estudios previos detectando significativamente más episodios de leucopenia y anemia con $AUC > 60 \text{ mg} / \text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ ($P = 0,03$). No se encontró asociación entre los episodios de de diarrea y el AUC_{0-12h} .60

Una posible respuesta a estos resultados podría ser explicado porque en estos estudios las AUC miden concentración total de ácido micofenólico (suma de la fracción libre y de la conjugada) de forma que no detectaríamos la fracción libre del MPA que en definitiva es la causante de los efectos adversos.

Por otra parte el AUC total no mide el metabolito acilglucurónido (M2) del MPA. El M2 tiene potencial tóxico y pueden contribuir a la toxicidad del fármaco. El M2 podría ser capaz de inducir la liberación de citoquinas proinflamatorias. Esto podría estar en relación con los trastornos gastrointestinales que se han observado durante el tratamiento con MPA. Un estudio investigó si M2 podía

inducir la liberación de IL-6 y de TNF-alfa, así como la expresión génica de estas citocinas en los leucocitos. El resultado del mismo demostró que el aumento de citoquinas era dependiente del M2, mientras que MPA o MPAG no producían dicha respuesta.⁴⁰

En resumen podemos decir que las AUC mayores a 60 mg.h/l, estarían en relación con la toxicidad hematológica del fármaco ^{55, 56, 60}

Tras una exhaustiva revisión de todos estos estudios de farmacocinética del micofenolato en trasplantados, Staatz y Tett⁵⁰ publicaron hace 8 años que hay varias razones para considerar el tratamiento personalizado con micofenolato, incluyendo:

- Gran variedad entre sujetos en la farmacocinética y farmacodinámica del micofenolato, con estudios que hablan de una variabilidad interpacientes de hasta 10 veces.
- Cambios en la exposición al fármaco a lo largo de la evolución del trasplante.
- Influencia de la comedicación asociada.
- La existencia de una relación definitiva entre eficacia y exposición.
- Una posible separación de exposición efectiva y toxicidad.
- Un amplio número de factores conocidos que afectan la farmacocinética del micofenolato.

Son muchos los estudios que han intentado explicar la gran variabilidad que existe con los niveles de MPA con diferentes resultados. Por ejemplo, función renal alterada e hipoalbuminemia llevan a un aumento del aclaramiento de MPA y por lo tanto a menor exposición⁶¹⁻⁶³ aunque, sin embargo, esto no ha sido confirmado en todos los estudios^{64, 65}. También, cuando se estudian los efectos de la medicación asociada^{63, 64}, peso corporal, edad, sexo^{62, 63}, y raza⁶¹ los resultados han sido contradictorios.

Otro factor más que ha surgido y que justificaría el conocimiento de AUC serían las estrategias de minimización de inhibidores de la calcineurina, después de la retirada de esteroides o después de cambios entre drogas inmunosupresoras para evitar infra o sobreexposición a MPA. De igual modo que el empleo emergente de productos genéricos hace que sea necesaria una monitorización más exacta. Las concentraciones de MPA basal han sido usadas como sustituto del AUC durante 12 horas, pero se ha observado una pobre relación entre ambas⁶⁶⁻⁶⁸; sin embargo, el AUC en 12 horas, requiere la extracción de múltiples muestras de sangre para analizar y por tanto la estancia del paciente durante 12 horas en el hospital, y es obvio que esto es difícilmente aplicable en la rutina habitual. Por ello se están ensayando estrategias en el uso de MMF, con extracciones de muestras de sangre en periodos de tiempo más cortos (AUC abreviadas)⁶⁹. La investigación ha sido dirigida a estudiar estrategias de muestreo limitado para estimar el AUC en pacientes trasplantados en tratamiento con MMF. Sin embargo, para EC-MPS son escasos los estudios. Los

primeros estudios que examinaron el desarrollo de estas fórmulas de muestreo abreviado para la predicción del AUC en pacientes trasplantados renales y en tratamiento con EC-MPS presentaban algunos sesgos en su diseño que hacían desaconsejable estas fórmulas para dicho fármaco.⁷⁰⁻⁷²

En el estudio de De Winter et al.⁷¹ incluyeron un grupo de 109 pacientes, 79 de ellos con ciclosporina y 30 pacientes tratados con tacrólimus. Se obtuvieron datos farmacocinéticos procedentes de diferentes ensayos clínicos, con diferentes esquemas de extracción de muestras, por ello en estas fórmulas abreviadas sólo había un máximo de 3 puntos de tiempo de muestreo, con la última muestra tomada 2 horas después de la administración del fármaco y posteriormente ampliada a una tercera hora (los datos desde la cuarta hora en adelante no estaban disponibles para todos los pacientes). La validación de las LSS desarrolladas mostraron que el AUC_{0-12h} en los pacientes tratados con ciclosporina podían extrapolarse con tres extracciones: a la media hora, a la hora y media y a las dos horas ($C_{0,5h}+C_{1h}+C_{2h}$); y las fórmulas abreviadas del AUC_{0-12h} en los pacientes tratados con tacrólimus serían a la media hora, a la hora y a las dos horas ($C_{0,5h}+C_{1h}+C_{2h}$), con resultados poco precisos. Cuando se usó la tercera hora como último punto de tiempo de muestreo (a pesar de que no estaba disponible en todos los pacientes del estudio) se observó que había mejorado el ajuste ligeramente, pero aún el coeficiente r^2 era $<0,40$ y el sesgo > 14 . También se observó una sobreestimación de las AUC_{0-12h} en los valores por debajo de la ventana terapéutica ($<30mg.h/L$) y la

subestimación de las AUC_{0-12h} con valores por encima de la ventana terapéutica del MPA ($>60\text{mg}\cdot\text{h/L}$). La consecuencia clínica de este sesgo de estimación sería que en caso de curva disminuida ($AUC_{0-12h} < 30 \text{ mg}\cdot\text{h/L}$) no se aumentaría la dosis de EC- MPS en algunos pacientes, de la misma manera no se realizaría la reducción de dosis adecuada para los valores verdaderos mayores a $60 \text{ mg}\cdot\text{h/L}$.

Por otra parte, los pocos estudios farmacocinéticos existentes, se centran fundamentalmente en el primer año post-trasplante (generalmente en los primeros meses), siendo muy poco conocida la farmacocinética en el trasplante renal de mantenimiento y su relación con los efectos adversos.

3.5 FARMACOGENÓMICA

3.5.1 Definición.

La farmacogenómica estudia la identificación de variantes genéticas que se expresan de una forma estable, y pueden utilizarse como predictivas de las propiedades farmacocinéticas o farmacodinámicas de los fármacos. En los últimos años se ha detectado la existencia de polimorfismos en los genes que codifican las enzimas de las cuales los inmunosupresores son sustrato, tanto para su transporte como para su metabolización. Un **polimorfismo genético** es una variante alélica que existe de forma estable en una población y que presenta una frecuencia de al menos el 1%. Un polimorfismo de un solo

nucleótido o SNP es una variación en la secuencia de ADN que afecta a un solo nucleótido. Se estima que existen entre diez y treinta millones de SNP en el genoma humano, formando hasta el 90% de todas las variaciones genómicas humanas, y aparecen cada 100-300 bases a lo largo del genoma humano. También pueden producirse deleciones/inserciones, conversiones génicas, deleciones enteras, microsatélites (secuencias repetidas en tándem que son copias múltiples de secuencias de ADN repetidas de 20-70 pb) y minisatélites (repeticiones en tándem de secuencias de 2-5 nucleótidos).⁷³

Estas variaciones en la secuencia del ADN pueden afectar a la respuesta de los individuos a enfermedades, bacterias, virus, productos químicos, o ante fármacos.

Para otros tipos de fármacos, cada vez son más los estudios de farmacogenética y su impacto en la farmacodinámica del producto.

3.5.2 Polimorfismos de complejos enzimáticos relacionados con la inmunosupresión

Principalmente se han estudiado los SNP de genes codificadores de enzimas metabolizadoras de los fármacos inmunosupresores, proteínas reguladoras del transporte, y en las dianas del fármaco.

A modo de resumen, describimos los más significativos y estudiados en el momento actual, relacionados con el tratamiento inmunosupresor en la tabla 2.

Tabla 2. Principales Polimorfismos involucrados en el metabolismo de fármacos inmunosupresores.

- 1. Proteínas reguladoras de transporte:
 - Transportadoras: MDR-1 o ABC (nefrotoxicidad por CsA, TAC)
 - Proteínas relacionadas con la resistencia a fármacos. MRP (TAC)
- 2. Polimorfismos de las dianas:
 - IMPDH (MPA)
- 3. Enzimas de biotransformación:
 - TPMT (AZA).
 - _ CYP3A4 y CYP3A5 (TAC, CsA, SRL, EVL)
 - _ UGT1A9 (MPA).

CsA= ciclosporina. TAC= tacrólimus. MPA= ácido micofenólico. Aza= Azatioprina. SRL= sirolimus.
EVL = everolimus

ATP: ATP-binding cassett . IMPDH= inosinamonofofato deshidrogenasa. TPMT: tiopurina metiltransferasa. CYP : citocromo P450. UGT: UDP-glucuronil transferasa.

3.5.2.1 Proteínas reguladoras de transporte:

3.5.2.1.1 Transportadores ABC : p-glucopeína.

Son una superfamilia de transportadores conocidos como ATP-binding cassette (ABC). Son proteínas unidas a membrana que están relacionadas con la resistencia a fármacos. Se expresan tanto en células cancerosas como en tejidos normales e intervienen en la absorción, recambio tisular y eliminación de fármacos.

La p-glucopeína confiere resistencia a ciertos fármacos al disminuir las concentraciones intracelulares de éstos. La p-glucopeína y su gen codificante, el gen de resistencia a fármacos (MDR1), se expresan en órganos normales, tales como: el cerebro, la glándula adrenal, el riñón, el hígado y aparato digestivo, donde contribuye al mantenimiento de la barrera hematoencefálica, transloca hormonas y destoxifica xenobióticos. Se han identificado 29 polimorfismos en el gen MDR1 con diferencias étnicas considerables en su frecuencia de expresión.⁷⁴⁻⁷⁷

De ellos, el SNP G2677T/A en el exón 21 y el SNP C3435T en el exón 26 han sido los más estudiados debido a que disminuyen la expresión y la función de la p-glucopeína⁷⁸⁻⁸⁰.

Es posible que en un futuro próximo la caracterización de los haplotipos específicos del gen MDR1 pueda explicar la eficacia y la toxicidad de determinados fármacos.

3.5.2.1.2 Proteínas relacionadas con la resistencia a fármacos

Los miembros de la familia de proteínas relacionadas con la resistencia a fármacos (MRP) actúan como bombas de eflujo de fármacos que aportan a las células resistencia frente a los fármacos. Los perfiles de resistencia son similares a los de la p-glucoproteína/MDR1, aunque no idénticos. Se sobreexpresan en tejidos normales como el hígado, pulmón, testículo, células mononucleares de sangre periférica y otros. Las MRP se expresan en la membrana plasmática externa, en las vesículas intracelulares y en el aparato de Golgi, lo que apunta a un papel en el secuestro de fármacos en vesículas y exportación celular del fármaco. En los genes MRP1 y MRP2 se han identificado varios SNP, algunos de ellos asociados con el síndrome de Dubin-Johnson, aunque todavía no se ha determinado su efecto en el transporte de fármacos.

MRP2 es el principal transportador involucrado en la excreción de MPAG, tanto en hígado como en la célula renal tubular proximal y también en las células epiteliales del intestino, habiéndose descrito varios SNPs de nucleótidos^{43, 61} y es posible que esos polimorfismos sean relevantes en la farmacocinética del MPA. MRP2 pertenece a la superfamilia de los transportadores ATP-bindingcasette (ABC). Este transportador de aniones orgánicos es codificado por un gen localizado en el cromosoma 10q24. Se ha descrito que los SNPs C-24T y C-3972T protegen de una disminución en la exposición a MPA. Los sujetos que presentan el SNP MRP2 C-24T no sufren esta disminución en la

exposición a MPA aunque presentan significativamente más diarrea en el primer año postrasplante ⁸¹.

3.5.2.2 Polimorfismos de las dianas.

Ya comentamos al inicio que la acción inmunosupresora fundamental del MPA es su efecto antiproliferativo de la población linfocitaria, actuando como un potente inhibidor, selectivo, no competitivo y reversible de la enzima inosinamonofosfato deshidrogenasa (IMPDH), no pudiendo sintetizar trifosfato de guanosina (GTP) y deoxiguanosina trifosfato (d-GTP), y por lo tanto no pudiendo replicarse.

Se han descrito dos SNP de las dos isoformas de la enzima IMPDH:

El SNP del gen rs2278293 del IMPDH1 se asoció con una menor riesgo de biopsia aguda del injerto renal y un mayor riesgo de leucopenia ⁸²

El SNP del gen 3757 CC + CT del IMPDH2 se asoció con una mayor incidencia de rechazo agudo del injerto renal, ya que los portadores de dicho polimorfismo tienen una mayor actividad de la enzima IMPDH2⁸³

3.5.2.3 Enzimas de biotransformación:

3.5.2.3.1 Tiopurina metiltransferasa (TPMT).

Los polimorfismos genéticos pueden tener importancia en el efecto final del tratamiento inmunosupresor, uno de los primeros fármacos en los que se describió un polimorfismo en la enzima responsable de su metabolismo, fue la

azatioprina, dicho fármaco se metaboliza por la tiopurina metiltransferasa (TPMT). Aproximadamente un 10% de la población es portadora de un polimorfismo de TPMT con mucha menor actividad metabolizadora.⁸⁴

De cada trescientos pacientes, uno es homocigoto para dicho polimorfismo, de forma que no produce TPMT en absoluto, multiplicándose el efecto de la azatioprina con todas sus consecuencias, es decir un alto riesgo de desarrollar mielotoxicidad y necesidad de reducir o suspender el fármaco en los pacientes portadores del SNP. De hecho el genotipado de dicho polimorfismo fue de los primeros test farmogenéticos realizados en la práctica clínica⁸⁵, sin embargo su uso antes de iniciar un tratamiento con azatioprina no se generalizó, probablemente por la baja frecuencia de la mutación y la existencia de otra forma rápida y sencilla de objetivar el efecto mielosupresor de la azatioprina, mediante análisis hematológicos periódicos.

3.5.2.3.2 Citocromo P450

Las enzimas del citocromo P450 (CYP) desempeñan un papel esencial en la detoxificación de la mayoría de los fármacos, así como en la activación de profármacos. Este complejo enzimático realiza su acción metabolizadora de productos endógenos (esteroides, ácidos grasos y prostaglandinas) y exógenos (fármacos y xenobióticos) mediante oxidación, reducción e hidroxilación y puede convertir el fármaco en un metabolito farmacológicamente inactivo, menos activo, e incluso más activo que la molécula inicial.

Se han identificado 21 familias de enzimas citocromales divididas en 20 subfamilias y 51 genes. (Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee www.cypalleles.ki.se/). Las principales familias CYP450 metabolizadoras de fármacos y otros agentes exógenos son CYP1, CYP2 y CYP3.^{86, 87}

Los polimorfismos en los genes CYP pueden afectar a la farmacocinética de los medicamentos y dar lugar a ineficacia o toxicidad de los tratamientos CYP3A. La subfamilia CYP3A constituye de 30 a 70% del total de CYP450 y es la isoforma predominante en el hígado e intestino, participa en el metabolismo de más del 50% de los fármacos y contiene 4 miembros: CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 y CYP3A43. Las principales enzimas responsables de la biotransformación de los medicamentos inmunosupresores son CYP3A4 y CYP3A5. Los genes que codifican estas isoformas se localizan en el cromosoma 7 del CYP3A.

La mutación más frecuente en el gen CYP 3A4 es el cambio de una Adenina por Guanina en la posición 392 (A<G) que se conoce como CYP3A4*1B, esta mutación es muy frecuente en la población afroamericana.⁸⁸

El descenso del aclaramiento de anticalcineurínicos se ha relacionado con el descenso de la actividad CYP3A4 y por lo tanto con un riesgo aumentado de sobreexposición al fármaco. Se han identificado otras numerosas variantes alélicas, desde CYP3A4*2 a CYP3A4*19. Las variantes CYP3A4*2 (Ser222Pro), CYP3A4*4 (Ile118Val) y CYP3A4*5 (Pro218Arg) codifican una proteína con

actividad enzimática reducida. El CYP3A4*6 provoca un cambio en el marco de lectura que se relaciona con un metabolismo alterado. Los alelos CYP3A4*17 (Phe189Ser) y CYP3A4*18 (Leu293Pro) dan lugar a un descenso y un incremento de la actividad enzimática, respectivamente.

También se han encontrado polimorfismos del CYP3A5 que pueden provocar alteraciones en la expresión del gen. La variante genética más frecuente e importante en el gen de la enzima CYP3A5 es un cambio de adenina por guanina en la posición 6986 (6986 A>G) dentro del intrón 3, lo que trae como resultado un mRNA aberrante y una CYP3A5 truncada y no funcional. Este cambio se denomina CYP3A5 * 3. Existe un grupo italiano que ha estudiado la frecuencia de esta mutación en pacientes trasplantados renales⁸⁹, observando que esta variante es muy frecuente en la raza blanca. (tabla 3).

Tabla: 3- Comparación de la frecuencia del CYP3A5 entre distintas poblaciones.

POBLACIÓN	CYP3A5*3 (G)	CYP3A5*1 (A)
Español	0.91	0.09
Italiano	0.92	0.08
Francés	0.87	0.13
Koreano	0.69	0.31
Chino	0.78	0.22
Marroquí	0.73	0.26
Brasileño	0.78	0.22
Tanzano	0.14	0.75

La presencia de la mutación CYP3A5*1 (a diferencia de lo que ocurre con la mutación CYP3A4) condiciona un descenso en los niveles plasmáticos de tacrólimus lo que aumenta el riesgo de rechazo agudo del injerto renal y una disminución de la supervivencia del injerto a largo plazo.

Los pacientes portadores de la mutación precisan dosis más altas de tacrólimus que los no portadores para conseguir niveles del fármaco en rango. El estudio REDINREN realizado en 400 trasplantados renales, demostró que los pacientes que tenían el genotipo CYP3A5*3 recibieron dosis significativamente más altas en la primera semana, sexto mes y primer año de trasplante.⁹⁰

El Estudio DEKAF, realizado en 695 trasplantados renales, mostró que los pacientes afroamericanos (n:144) presentaban niveles más bajos de tacrólimus a los seis meses del trasplante comparados con el resto, de forma estadísticamente significativa; y sus médicos tuvieron que aumentar la dosis de tacrólimus hasta un 60%, $p < 0,001$. Se observa una alta incidencia de portadores de la mutación CYP3A5 como el 3A5*3 entre la población afroamericana, siendo el estado de portador de la mutación CYP3A5*3 variable independiente asociada a estas bajas concentraciones de tacrólimus en sangre⁹¹.

Por su trascendencia clínica y número de investigaciones al respecto es obligatorio nombrar el CYP2D6, pues participa en el metabolismo de múltiples fármacos. El CYP2D6 presenta una alta variabilidad fenotípica debida al

polimorfismo genético. La actividad de la CYP2D6 puede ser descrita bajo uno de los siguientes patrones:

- Metabolizador normal o extensivo: La actividad enzimática es normal o levemente disminuida.
- Metabolizador lento: La actividad enzimática está muy disminuida o es inexistente.
- Metabolizador intensivo o ultrarrápido: Presentan varias copias del gen expresadas, por lo que la actividad es muy superior a la normal.

La raza es un factor en la variabilidad del CYP2D6. La prevalencia de los metabolizadores lentos es aproximadamente de un 6% al 10% en la raza blanca, del 2% en los asiáticos, y mayor a 10% en la raza negra. Los metabolizadores ultra rápidos aparecen con más frecuencia en Oriente Medio y norte de África. Esta variabilidad parece depender de la diferente tasa de presentación de dos alelos del CYP2D6, en concreto el CYP2D6*4 (no funcionante) y el CYP2D6*10.^{92, 93}

3.5.2.3.3 COMPLEJO ENZIMATICO UDP-GLUCURONIL TRANSFERASA

Es posible que factores genéticos que controlen el metabolismo mediado del MPA (y la consecuente excreción en el intestino y en la orina) sean factores influyentes en la gran variabilidad en la cinética del MPA.

A la complejidad en el manejo de MPA motivada por su variabilidad intra e interindividual anteriormente comentada, hay que sumar la constatación en los

últimos años de la existencia de polimorfismos en los genes que codifican las enzimas de las cuales el MPA es sustrato, tanto para su transporte como para su metabolismo.

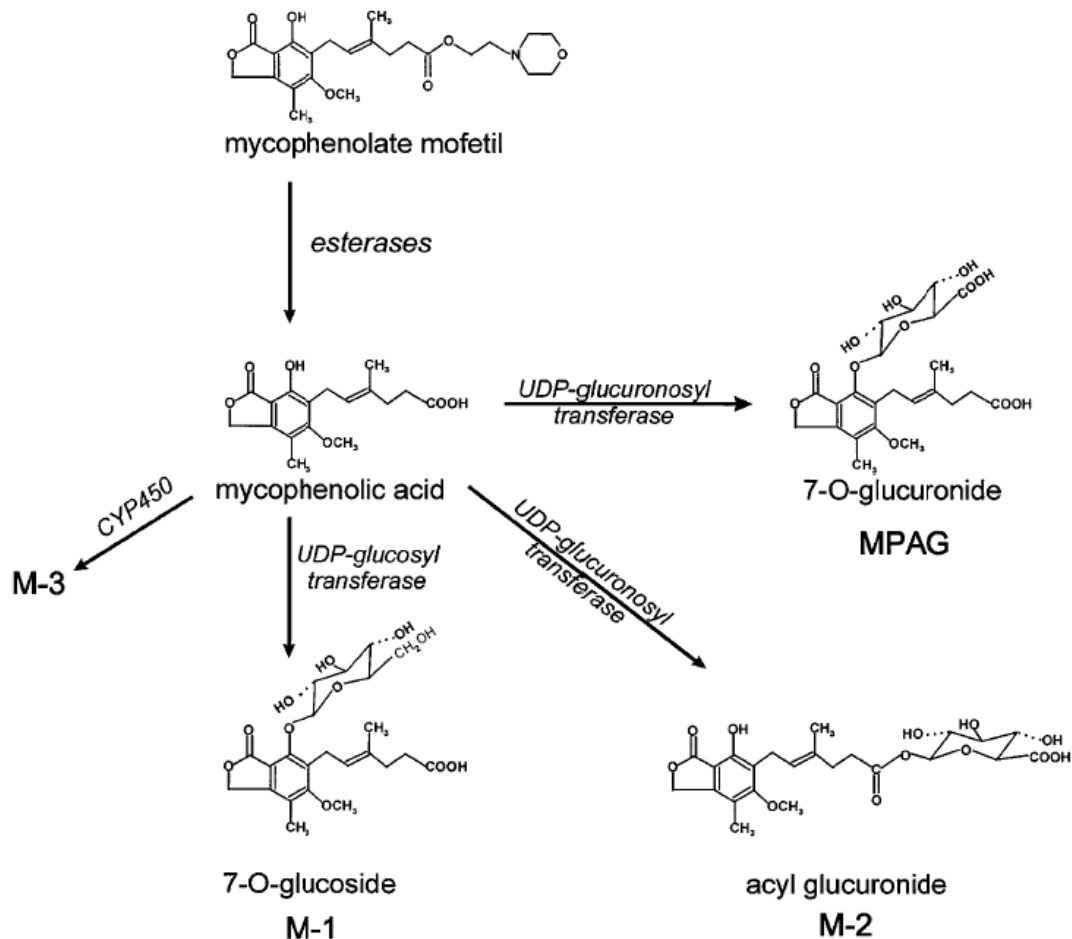


Figura 7. Complejos enzimáticos responsables del metabolismo del MPA a sus distintos metabolitos

A diferencia del metabolismo de otros inmunosupresores, el **proceso de la glucuronidación** juega un papel significativo en la farmacocinética del MPA.

Los complejos enzimáticos UGT 1A1 , 1A7 , 1A8 , 1A9 y 1A10 son los más importantes para glucuronidación del MPA .En concreto el complejo UGT1A9 expresada principalmente en el hígado es responsable de más del 50 % del metabolismo del MPA a MPAG .

El complejo enzimático UGT1A8 y UGT1A10, está predominantemente ubicado en el tracto gastrointestinal y desempeña un papel menor en el metabolismo del MPA.

El MPA también se metaboliza a través de UGT2B7 y UGT1A8 a AcMPAG, que puede contribuir a toxicidades gastrointestinales y posiblemente hematológicas. Se ha observado que los polimorfismos del complejo enzimático UGT se correlacionan con cambios en la expresión de proteínas y la actividad de la propia enzima, lo cual podría influir en la gran variedad interindividual de la farmacocinética y farmacodinámica.⁹⁴

Como recordamos en el metabolismo del MPA, la excreción biliar del MPAG y posterior reabsorción requiere diversos mecanismos de transporte entre los que se incluyen los polipéptidos transportadores de aniones orgánicos y proteínas relacionadas con la multirresistencia a drogas (MRP2); parece que los distintos polimorfismos en el MRP2 también jugarían un papel en la farmacocinética del MPA.^{95, 96}

El número de estudios sobre los distintos SNPs presentes en los genes que codifican las distintas enzimas y su relación con los efectos adversos de MPA han ido aumentando en los últimos tiempos.

Como los complejos enzimáticos UGT1A y UGT2B son los principales implicados en el metabolismo de los agentes inmunosupresores, nos centraremos en la descripción de la UGT1A y UGT2B. Las proteínas UGT1A se codifican a partir de una secuencia en el locus del cromosoma 2q37 y abarcan más de 218 kb. El complejo de genes UGT1A está compuesto por los 13 primeros exones que se someten a corte y empalme alternativo con exones comunes 2-5. El exón en el extremo 5' especifica el dominio de unión al sustrato en la región aminoterminal. Los exones comunes en el extremo 3' codifican la UDP- ácido glucurónico ácido. En el locus UGT1A , hay 9 enzimas funcionales designadas como UGT1A1 y UGT1A3 - UGT1A10 , mientras que UGT1A2p , UGT1A11p , UGT1A12p y son UGT1A13p son pseudogenes .⁹⁷⁻⁹⁹

Las enzimas UGT2B están codificadas por genes separados situados en 4q13 . Cada gen UGT2 consta de seis exones. Entre las diversas isoformas UGT2B (UGT2B4 ,UGT2B7 , UGT2B28 , UGT2B10 , UGT2B11 , UGT2B15 , UGT2B17), de todas ellas UGT2B7 es la enzima que se ha estudiado más en farmacogenética ¹⁰⁰.

La expresión de UGT1A9 en los microsomas humanos varía 17 veces, y esto se correlaciona con SNPs específicos de un único nucleótido en la región

promotora del gen (T-275A, C-2152T) que resulta en mayor tasa de glucuronización de MPA comparado con los individuos que no tienen ese SNP⁴³; este hecho va a marcar los efectos secundarios derivados de ser portador de dicha mutación. Más del 15% de las muestras hepáticas analizadas tenían los SNPs T-275A y C-2152T. De forma inversa la actividad glucuronosiltransferasa para MPA fue menor en individuos que tenían el alelo UGT1A9*3 (T98C), indicando una disminución en la actividad enzimática causada por una mutación en la región del codón 33 del gen UGT1A9. Este SNP estaba presente en menos del 5% de la población. Si la existencia de SNPs en otros genes UGT, por ejemplo en el UGT2B7, puede conducir a cambios relevantes en la glucuronización de MPA y en la subsecuente producción de AcMPAG no se conoce bien. Kuypers et al.¹⁰¹ estudiaron los SNPs en 95 trasplantes renales realizando curvas de MPA en los días 7, 42, 90 y 360 post-trasplante en tratamiento con TAC y MMF a 1 o 2g/día.

Respecto a la distribución de los distintos polimorfismos, encontraron el polimorfismo C-2152-T de la región promotora del gen UGT1A9 en 12 pacientes, un 12,6% del total, (11 fueron heterocigotos y 1 homocigotos) y el polimorfismo T275 en 16 pacientes, un 16,8% del total (15 heterocigotos y 1 homocigotos), el número de pacientes portadores de los dos polimorfismos fue de 11, el 11,6% del total, mucho menos frecuente fue la presencia de la mutación en el codón 33 del gen UGT1A9 (UGT1A9*3) con solo tres pacientes portadores, un 3,1% del total. (Tabla 4).

Tabla 4. Figura Frecuencia de los polimorfismo T-275A y C- 2152T

Frecuencia de los T-257A y C-2152T SNPs

	T-275A y C-2152T		
	T-275A	C-2152T	2152T
No portador	105 (85,4%)	107 (87%)	NA
Portador	18 (14,6%)	16 (13%)	14
Portador Heterocigoto (1/2)	18 (14,6%)	16 (13%)	14
Portador Homocigoto (2/2)	0	0	0

En los pacientes que tomaban 2 gramos de MMF, se observó una significativa disminución en la exposición al fármaco en aquellos que presentaban el SNPs comparados con los no portadores (AUC_{0-12h} $31,7 \pm 17,6$ mg.h/L vs $63,6 \pm 30,96$ mg. h/L). El aclaramiento corporal total estimado fue mayor en los pacientes con el SNP. La curva parcial AUC_{6-12h} , como reflejo de la recirculación enterohepática, estaba significativamente disminuida en los sujetos con los SNPs y de forma similar la relación entre AUC_{6-12h} y AUC_{0-12h} era significativamente menor en los pacientes con los SNPs. El autor explica este descenso en AUC_{6-12h} , en los portadores del SNP puesto que se produce un aumento de la actividad de la UGT1A9 (con un aumento en la concentración de

MPAG y por lo tanto un descenso de MPA) también a nivel intestinal, responsable del descenso del segundo pico de MPA en sangre. Estos datos fueron independientes del sexo, de la existencia de necrosis tubular aguda o de disfunción hepática. La diarrea no apareció en los pacientes portadores del SNP (destacar que el número de pacientes portadores era muy pequeño) y se dio en casi 31% de los pacientes sin SNP. El análisis de regresión múltiple en la variabilidad interindividual en la farmacocinética de MPA (incluyendo variables como edad, sexo, función renal, albúmina, función hepática y hematocrito) mostró que el SNP UGT1A9 fue la variable independiente más significativa respecto al descenso de AUC. Si no se reconocen los pacientes portadores del SNPs, puede ocurrir que al tener menos exposición al fármaco podrían tener más fallos de tratamiento (consecuentemente más riesgo de rechazo). La interrupción de la circulación enterohepática puede ser en parte responsable de ello. El efecto del SNP no mostró una mayor incidencia estadísticamente significativa de rechazo (16,6 vs 7,7; $p=0.48$), probablemente por la baja incidencia de rechazo en ambos grupos. Como no se hizo un completo haplotipo del gen UGT1A9 puede ser que existan también otros SNPs que no se hayan valorado, así como SNPs de UGT1A8 y de UGT2B7.¹⁰¹

También se han investigado otros SNP del complejo UGT1A9 y su asociación con los parámetros farmacocinéticos de MPA. Algunos estudios han examinado el papel de UGT1A9 -98T> C (UGT1A9 * 3). Este SNP se asoció con una mayor concentración del AUC del MPA en los pacientes tratados con MMF¹⁰¹⁻¹⁰³

Por ejemplo, un estudio encontró una mayor AUC del MPA en los portadores del SNP en comparación con los no portadores, y con una clara influencia según el inmunosupresor acompañante, siendo el AUC del 49% y un 54% mayor en los pacientes en tacrólimus y ciclosporina respectivamente, en comparación con los no portadores¹⁰³

Otro estudio reportó un hallazgo similar sólo en pacientes que recibieron 1 gramo al día y no con 2 gramos al día, pero esto se basó en sólo 3 pacientes con este polimorfismo¹⁰¹. La frecuencia de este SNP en estos estudios y en los blancos en general es bastante baja (1,6-3%) por lo que la interpretación de estas asociaciones genéticas y su escasa utilidad real, hacen que no sea de gran interés.

El SNP UGT1A9 i399 también se examinó, pero no se encontraron asociaciones significativas.¹⁰³

También se han evaluado los SNPs UGT1A9 -440C> T y -331T>C, ambos con resultados opuestos entre sí.⁹⁸

Sin embargo, otro estudio realizado en 40 trasplantes de riñón en tratamiento con ciclosporina demostró una menor MPA AUC_{0-12h} a los seis meses después del trasplante en pacientes con uno cualquiera de los dos SNPs (tanto para UGT1A9 -440C>T como para -330T>C). En este estudio, la tasa de filtración glomerular (TFG) se correlacionó inversamente con MPAG AUC_{0-12h} .

Los niveles de MPAG pueden aumentar con la reducción del filtrado glomerular, y se sabe que MPAG compite en la unión del MPA a proteínas, Y en última instancia, puede conducir a un aumento de la MPA libre y del aclaramiento total MPA, y una reducción del AUC del MPA. Este efecto indirecto podría haber influido significativamente en los resultados de este estudio, cuestionando la verdadera contribución y asociación de estos SNPs con parámetros farmacocinéticos.⁹⁷

Otros dos SNP de UGT1A8: 830G> A (UGT1A8 * 3) y 518C> G (UGT1A8 * 2) han sido evaluados por su relación con la farmacocinética del MPA. Se trata de dos estudios, uno realizado en 117 pacientes trasplantados de riñón y/o páncreas donde no se encontró ninguna influencia para el SNP 830G> A (UGT1A8 * 3) en la farmacocinética de MPA. Si bien este estudio tenía un gran número de pacientes, la frecuencia de estos SNP era muy baja (4-7%) .^{102, 103}

Sin embargo los portadores del SNP 518C> G (UGT1A8 * 2) en el grupo de 117 trasplantes de riñón y/o páncreas presentaron un AUC de MPA un 60% más alto que en los no portadores.¹⁰²

En otro estudio de 338 trasplantados de riñón, no se encontró ninguna influencia para el SNP 830G> A (UGT1A8 * 3) en la farmacocinética de MPA. Se objetivó que los que recibieron ciclosporina con MMF y esteroides que eran portadores homocigotos (*2*2) tenía una media de AUC_{0-12h} un 18% mayor que los pacientes heterocigotos. Sin embargo en el grupo en tratamiento con

tacrólimus, MMF y esteroides tenían un AUC_{0-12h} un 13% más alto, pero esta asociación no fue estadísticamente significativa¹⁰³

Por lo tanto, como con otros SNPs UGT, obtenemos resultados contradictorios asociados. Esto podría deberse a los problemas de diseño de los estudios y otros parámetros fisiológicos y farmacológicos que no se han tenido en cuenta, así como la influencia de otros SNPs UGT no probados.

El metabolito activo del MPA, AcMPAG, se asocia a los efectos secundarios, como la toxicidad gastrointestinal y leucopenia. Se cree que este metabolito causa una unión irreversible entre las proteínas plasmáticas y tisulares y ácidos nucleicos causantes de la toxicidad celular. El AcMPAG, al igual que el MPAG, son eliminadas por vía renal y las concentraciones son más elevadas en pacientes con función renal reducida. Existe una variación interindividual de las concentraciones AcMPAG, y esto podría ser debido, en parte, a polimorfismos en los complejos UGT1A8 y UGT2B7, las enzimas responsables de la conversión de AMP a AcMPAG. Son muy escasos los estudios que han evaluado la influencia de los SNP de UGT2B7 y su asociación con la concentración de AcMPAG. Además los estudios sobre la influencia de SNP del UGT2B7 -842G> A, -79G> A y -802C> T (UGT2B7 * 2) muestran resultados poco significativos. En un estudio de 40 trasplantes de riñón de raza blanca, tratados con ciclosporina y esteroides, no se observa ninguna asociación entre el AUC_{0-12h} y el SNP UGT2B7 -802C> T⁹⁷.

En otro estudio realizado con pacientes japoneses,¹⁰⁴ tampoco se observó ninguna asociación con el SNP UGT2B7 -802C> T y la farmacocinética de MPA.

Se han descrito dos estudios (con pacientes trasplantados japoneses y blancos) donde no se objetivó ninguna asociación entre los SNP del complejo enzimático UGT y el metabolismo de AcMPAG.^{105, 106}

Por último, hay que mencionar otro estudio que se realizó en 68 pacientes portadores de trasplante de pulmón y de corazón, la mayoría de origen blanco, que recibieron MMF con ciclosporina o tacrólimus. Este estudio analizó los SNPs UGT1A9 y UGT2B7 y los parámetros farmacocinéticos de MPA y AcMPAG. No se encontró ninguna asociación entre los SNP de UGT1A9 y MPA o AcMPAG. Sin embargo se pudo observar que los portadores de UGT2B7 -802T (* 2) presentaban un AUC_{0-12h} de AcMPAG de 2,5 a 3,7 veces mayor que los no portadores del SNP. Los portadores de UGT2B7-138G> A (* 2 g) tenían un AUC_{0-12h} de AcMPAG que era de 9,3 a 12,3 veces mayor que los no portadores. Hay un importante dato que pudo influir en estos resultados, las diferencias significativas de los parámetros de función renal entre una población y otra. Como es sabido, la función renal reducida está asociada con la acumulación del metabolito AcMPAG. En este estudio la única evaluación de la función renal fue la creatinina sérica, que era significativamente diferente entre los pacientes trasplantados de corazón y los de pulmón. Por lo tanto los

hallazgos de este estudio podrían estar alterados por la función renal y el aclaramiento del metabolito en contraposición al efecto del SNP UGT2B7¹⁰⁷.

Probablemente **hay tantos factores implicados en el pronóstico del trasplante renal** (factores dependientes del donante, del receptor, evolución del injerto y del paciente en el período postrasplante, medicaciones concomitantes) **que no parece suficiente que un solo polimorfismo pueda ser único indicador de la evolución a largo plazo del injerto renal**. Un informe reciente de la FDA de un Workshop sobre Farmacodinámica y farmacogenómica: Biomarcadores en Trasplante de Órganos sólido, concluyó que las distintas variantes UGT no pueden ser incluidos como únicos biomarcadores potenciales de la terapia inmunosupresora.^{107, 108}

Sin embargo el conocimiento del polimorfismo junto a una adecuada monitorización del MPA, nos podría ayudar a un mejor ajuste de los niveles del fármaco dentro de una ventana terapéutica predefinida. A partir de estos estudios, **un biomarcador que combinara el polimorfismo UGT 1 A9 con la monitorización del MPA podría ser utilizado de forma prospectiva** para detectar pacientes con mayor riesgo de rechazo, prever la respuesta a cambios en la medicación inmunosupresora y prevenir posibles efectos adversos a largo plazo.

HIPÓTESIS



4 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El establecimiento de un tratamiento inmunosupresor individualizado en los pacientes trasplantados es esencial para mejorar la supervivencia del injerto. El desarrollo de la farmacogenómica permite establecer diferencias genéticas entre individuos, que pueden ser predictivas de la respuesta terapéutica y de los efectos adversos de un determinado fármaco.

El manejo del micofenolato mofetil, inmunosupresor ampliamente utilizado en nuestra población trasplantada renal, es complicado debido a la gran variabilidad interindividual, así como a las complejas interacciones farmacológicas, por ello sería útil identificar factores genéticos que nos informen sobre la dosis terapéutica a administrar.

Existen polimorfismos en los genes que codifican las enzimas que intervienen en el metabolismo y en el transporte del ácido micofenólico que pueden ser la causa de esa gran variabilidad interindividual en la respuesta terapéutica y en los efectos adversos del mismo.

Otro factor que complica el control de dicho fármaco es su farmacocinética no lineal, precisando de la realización del área bajo la curva de doce horas (con extracciones horarias) para su monitorización, método poco práctico en la actividad hospitalaria diaria. Existen fórmulas de curvas abreviadas para el micofenolato mofetil las cuales con menos puntos de extracción pueden por

medio de una fórmula matemática extrapolar el area bajo la curva de doce horas. Sin embargo no se han descrito aún para el micofenolato sódico.

El estudio, por tanto, está justificado para **conocer el estado de portador UGT1A9 -275/-2152 asociado la monitorización del MPA** en sangre, para una mejor adecuación de la dosis de fármaco necesaria y por consiguiente, lograr unos niveles de ácido micofenólico dentro de la ventana terapéutica deseada, y así poder detectar pacientes con mayor riesgo de rechazo, prever la respuesta a cambios en la medicación inmunosupresora y prevenir posibles efectos adversos a largo plazo.

4.1 HIPÓTESIS

-Los polimorfismos de los genes que codifican para el complejo enzimático UDP-glucuronosiltransferasa (UGT) influyen en la farmacocinética del micofenolato mofetil y pueden ser responsables del desarrollo de efectos adversos gastrointestinales.

-El micofenolato sódico precisa de la realización de un area bajo la curva de doce horas para su monitorización, obtener fórmulas de curvas abreviadas (como las ya existentes para el Micofenolato mofetil), que estimen de forma precisa la concentración plasmática real del fármaco podría facilitar su medición en la práctica clínica.

OBJETIVOS



5 OBJETIVOS

5.1 Objetivos principales del estudio.

- ✓ Encontrar parámetros que puedan ayudar a predecir la toxicidad del fármaco. Para ello, se van a realizar curvas farmacocinéticas de exposición a micofenolato junto con la determinación de polimorfismos genéticos de UGT 1A9 (2152 C>T y 275 T>A) en pacientes trasplantados renales estables y ello combinado con la realización de dos encuestas validadas en trasplante renal para sintomatología gastrointestinal (Gastrointestinal Symptom Rating Scale y Gastrointestinal Quality of Life Index).
- ✓ Obtener puntos en el tiempo que permitan estimar una curva abreviada a partir de una AUC completa de doce horas, para una monitorización mas sencilla del EC-MPS en pacientes trasplantados.

5.2 Objetivos secundarios del estudio

- ✓ Estudiar la evolución de la supervivencia del injerto renal y del paciente, función renal, la incidencia de rechazo agudo y nefropatía crónica en estos pacientes estratificando por los polimorfismos involucrados en el metabolismo de micofenolato.
- ✓ Comparar la farmacocinética de MPA en pacientes en tratamiento con MMF y con EC-MPS. Y analizar las diferencias de la farmacocinética de MPA en un mismo paciente en tratamiento primero con micofenolato mofetil y posteriormente cambiado a micofenolato sódico.
- ✓ Validación de curvas abreviadas presentes en la literatura previamente.

METODOLOGÍA



6 METODOLOGÍA

Estudio observacional retrospectivo de la cohorte de pacientes pertenecientes a la población de trasplantados renales de nuestro centro, y tratados con micofenolato sódico/micofenolato mofetil con cubierta entérica. Los sujetos fueron estratificados de acuerdo a los polimorfismos genéticos del UGT1A9 para ver si existían diferencias en la exposición al fármaco (medida por el estudio de farmacocinética) y en la sintomatología gastrointestinal mediante las encuestas validadas (Gastrointestinal Symptom Rating Scale y Gastrointestinal Quality of Life Index)

Previo a la realización del estudio se obtuvo la aprobación del Comité de Ética del centro y el consentimiento informado por parte del paciente. El estudio fue realizado de acuerdo con las guías para la buena práctica clínica.

6.1 ÁMBITO DE ESTUDIO:

El estudio se realizó en nuestro centro hospitalario sobre una población de trasplantes renales estables.

6.2 MEDIOS DISPONIBLES

El Centro donde se realizó el proyecto es el Hospital Clínico San Carlos de Madrid, donde se dispone del equipamiento asistencial y personal necesario para soportar este proyecto. Nuestro centro dispone de un grupo de trabajo multidisciplinario compuesto por profesionales de diferentes especialidades. El estudio se realizó con la participación interdepartamental de:

- Servicio de Nefrología: cuenta con todos los medios necesarios para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los pacientes trasplantados renales, así como para la recogida de las muestras.
- Servicio de Análisis Clínicos. La sección de Bioquímica cuenta con la infraestructura básica para la determinación de los niveles de MPA por técnica EMIT.
- Servicio de Análisis Clínicos. Sección de Genómica: cuenta también con la infraestructura básica para realizar todas estas determinaciones como equipo de congelación y ultracongelación, microcentrífuga, espectrofotómetro, medios para la extracción de DNA y RNA, termociclador para PCR, PCR a tiempo real, estudio de electroforesis vertical y horizontal, secuenciador ABI prism para estudio de polimorfismos detectados por PCR y secuenciación genómica y transiluminador UV.
- Unidad de Investigación: cuenta con epidemiólogos con experiencia y publicaciones en análisis de series temporales, que llevarán a cabo el diseño y el análisis estadístico de los resultados obtenidos.

6.3 SUJETOS DE ESTUDIO:

Se realizó estudio del polimorfismo UGT1A9 C-2152-T y T275A a 873 pacientes trasplantados renales seguidos en la consulta desde el año 2004 hasta el año 2013.

Para valorar el impacto que el SNP podía tener en la supervivencia del injerto y la población se analizaron 768 trasplantados renales consecutivos que se llevaron a cabo entre el año 2004 y el 2013. No se pudieron tipar 143 (15,6%) pacientes, de los cuales 93 recibieron un injerto no viable o sufrieron pérdida del mismo por complicaciones quirúrgicas en el inmediato post-trasplante, 33 no se han tipado y el resto (17) murieron en el inmediato post-operatorio.

El tratamiento de inicio consistía en distintas pautas inmunosupresoras. El tratamiento inmunosupresor de base está distribuido de la siguiente manera, un 78% (680 pacientes) recibían tacrólimus, un 7% (58 pacientes) recibían ciclosporina, un 14% (119 pacientes) recibían tratamiento con im-TOR y por último un 1% (16 pacientes) recibían otro tipo de inmunosupresión de base.

Respecto al tratamiento inmunosupresor que nos atañe, los inhibidores de la síntesis de purinas, del total de 873 pacientes renales, se encontraban al inicio 150 en tratamiento con azatioprina (AZA) (17,2%), 568 en tratamiento con micofenolato mofetil (MMF) (65,1%) y 155 en tratamiento con micofenolato sódico (EC-MPS) (17,8%).

Los criterios de inclusión fueron que los pacientes tuvieran una edad mayor o igual a 18 años, que hubieran recibido un trasplante renal al menos un año antes, una función renal estable en el último año, creatinina sérica < 3 mg/dl, tratamiento con micofenolato mofetil/micofenolato sódico con cubierta entérica. Para el estudio fueron criterios de exclusión: haber sido diagnosticado de

diabetes mellitus y/o el tratamiento con medicaciones concomitantes que pudieran interferir en la absorción de micofenolato (resinas, quelantes de fosfatos, rifampicina, antiácidos y metronidazol), haber sido diagnosticado de una enfermedad del aparato digestivo que alterara la absorción del MPA.

6.4 ESTUDIO DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS

A todos los pacientes incluidos en el estudio se les realizó un análisis de sangre del cual se extrajo el DNA de la muestra sanguínea mediante un método convencional con fenol-cloroformo.

Los dos polimorfismos que estudiamos fueron del complejo enzimático UGT1A9 (2152C>T, 275T>A); para cada polimorfismo se realizó una amplificación con “primers” específicos que acotan la región a estudiar y sondas específicas del cambio de base. La amplificación se realizará en una PCR a tiempo real.

6.5 ESTUDIO FARMACOCINÉTICO

El estudio farmacocinético se realizó dentro de la práctica asistencial habitual a 169 pacientes con trasplante renal en tratamiento con micofenolato. Para ello, se determinó el valor de la AUC_{0-12h} obteniendo muestras de sangre completas (5 ml), del cual se extrajo el plasma, mediante centrifugación a 3000g durante 15 minutos para posteriormente ser guardado a -80° hasta su análisis. La extracción se realizó en los siguientes tiempos: basal (antes de la toma de la medicación de la mañana) y a los 30, 60, 90, 120, 150, 180 y 210 minutos y luego a las 4, 5, 6, 8, 10 y 12 horas. Se determinaron los niveles de

micofenolato usando una enzima multiplicante inmunoaseguradora (EMIT ® Ensayo con ácido Micofenólico, de Siemens HealthcareDiagnostic Inc., Camberley, Reino Unido) con el Cobas Mira®, sistema de química basado en un límite inferior de cuantificación de 0,1 µg/mL para MPA. El control de calidad interno y externo (International Proficiency Testing Scheme, Reino Unido Neqas, Londres, Reino Unido) reveló que los datos eran correctos (tendencia < 4%).

6.6 ESTUDIO DE FÓRMULAS DE CURVAS ABREVIADAS

La muestra de estudio comprendió 71 pacientes que recibieron un riñón de donante cadavérico en tratamiento inmunosupresor con tacrólimus y EC-MPS, vistos de forma consecutiva en la consulta de trasplante renal. Los pacientes fueron seleccionados consecutivamente y se dividieron al azar en un grupo de prueba (n = 47; grupo A) y un grupo de validación (n = 24 ; grupo B) . Todos los pacientes presentaban una función renal estable. El estudio fue aprobado por el comité de ética local y todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito para participar.

6.7 TESTS DE SINTOMATOLOGIA Y CALIDAD DE VIDA GASTROINTESTINAL

En trasplante renal, el uso de dos escalas realizadas por el paciente (Gastrointestinal Symptom Rating Scale y Gastrointestinal Quality of Life Index) han sido validadas en un estudio^{27, 109}, siendo posteriormente utilizadas para

valorar la calidad de vida del paciente y la gradación de la sintomatología gastrointestinal de forma precisa tras el inicio del tratamiento con MPA ³⁵.

Cada paciente realizó dos cuestionarios, por orden realizaron primero el test de sintomatología gastrointestinal (GSRs) y posteriormente el test de calidad de vida (GIQLI). El Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRs) es un instrumento con 15 ítems diseñado para estudiar los síntomas asociados con los trastornos gastrointestinales. Tiene 5 subescalas (reflujo, diarrea, estreñimiento, dolor abdominal e indigestión) con 7 grados de respuesta (mayor grado, mayor sintomatología gastrointestinal).

El Gastrointestinal Quality of Life Index (GIQLI) es un test de 36 ítems desarrollado para evaluar la calidad de vida gastrointestinal. Tiene 5 subescalas (sintomatología gastrointestinal, estatus emocional, función física y psicológica y uso de tratamiento medicamentoso), en este test a mayor puntuación mejor calidad de vida. En el apartado de Anexos (I y II) se pueden revisar el contenido de ambos test en el formato en que se entregaba al paciente.

6.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

6.8.1 Objetivos principales del estudio:

1 Analizar si los polimorfismos de la UGT presentan relación con la farmacocinética de micofenolato en trasplantes estables en mantenimiento y con el desarrollo de sintomatología adversa gastrointestinal.

La determinación del tamaño de la muestra se fundamentó en, calcular una cantidad de pacientes que permitan obtener los datos suficientes para obtener con potencia estadística el objetivo principal del estudio.

La incidencia de los polimorfismos genéticos que estudiamos está en torno a un 16%^{49, 101}. Esta hipótesis se tradujo numéricamente en que ambos tratamientos presentarían una desviación estándar en el AUC similar y de valor estimado de 15 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ (en base a los estudios farmacocinéticos publicados). Por ello si se hace un análisis bilateral de dos medias independientes (las medias del AUC de MPA de cada tratamiento), con un error alfa de 0.05 y una potencia del 80%, se necesitarían 156 pacientes en cada grupo, para detectar diferencias entre las AUC del MPA superiores a 10 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.

El impacto de los polimorfismos genéticos de los enzimas de biotransformación en el coeficiente concentración-dosis de dichos fármacos se analizó mediante un análisis de la varianza (ANOVA) si se cumplen las asunciones para su aplicación, o mediante un test de Kruskal-Wallis si no se cumplía la distribución normal. Se ajustó el nivel de significación para contrastes múltiples mediante el test de Bonferrari. Los programas estadísticos utilizados fueron SPSS 15.0 y STATA 9.0.

2. Búsqueda de curvas abreviadas o de determinados puntos en las curvas que sean representativas del AUC real. A partir del estudio farmacocinético original, desarrollado evaluando las concentraciones de ácido micofenólico en los 13

puntos del estudio, se buscaron curvas acortadas con 3 o 4 puntos que permitieran una aproximación fiable al AUC total obtenida.

Las variables cuantitativas se compararon mediante la t de student. Las variables cualitativas se compararon mediante el test Ji-cuadrado o el test de Fisher. Las variables asimétricas se expresaron mediante la mediana y su rango intercuartil (RIC) y se compararon mediante el test de comparación de medianas. Las variables simétricas se expresaron en media \pm desviación estándar (DE).

Para determinar las relaciones entre el AUC_{0-12h} y las diferentes concentraciones de MPA en los 13 puntos estudiados usamos la regresión lineal. Posteriormente se realizaron estudios de regresión múltiple para predecir una fórmula abreviada factible, de manera que a partir de 3 o 4 puntos aislados se pudiera predecir el AUC_{0-12h} . Este análisis se realizó con la siguiente fórmula de predicción: $AUC_{0-N} = A_0 + A_1 \cdot C_1 + A_2 \cdot C_2 + \dots + A_n \cdot C_n$. Donde A_n son coeficientes y el número de muestras es variable. El criterio usado para definir la mayor regresión fue el valor r^2 . El grupo de validación se utilizó para testar la correlación entre el AUC_{0-12h} estimada con las estrategias de puntos limitados y el AUC_{0-12h} real medida.

Se calculó el 95 % del intervalo de fiabilidad intraclase (CCI). Se consideró un valor p de 0.05 o menos, como estadísticamente significativo. El análisis

estadístico se desarrolló usando SPSS 15.0 para Windows (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA).

Además se calculó el error de predicción mediano (o tendencia) y la precisión de la comparación entre el AUC_{0-12h} estimada usando la fórmula abreviada y el AUC_{0-12h} real medida, con la siguiente ecuación (AUC estimada/ AUC medida) $\times 100$. El factor de varianza fue calculado para valorar la colinearidad de los modelos. Calculamos el coeficiente de correlación r^2 ajustado para valorar la asociación entre el MPA AUC_{0-12h} real y el calculado. La tendencia y la precisión fueron visualizadas trazando la media resultante del perfil abreviado y el completo como fue descrito por Bland y Altman¹¹⁰

6.8.2 Objetivos secundarios del estudio

1. Estudiar la evolución de la función renal, la incidencia de rechazo agudo y número de ingresos por patología gastrointestinal en estos pacientes según los polimorfismos involucrados en el metabolismo de micofenolato. Se evaluó la pendiente de evolución del aclaramiento de creatinina (fórmula de Cockcroft-Gault) desde el inmediato post-trasplante hasta el momento de realización del estudio dividiendo a los pacientes en 2 grupos según la presencia o no del polimorfismo genético mediante el test de pendientes con modelo de regresión lineal comparativo entre las dos poblaciones.

2. La comparación de la farmacocinética de MPA en pacientes con y sin intolerancia digestiva al fármaco se realizó de forma similar al apartado 1 (análisis estadístico del objetivo principal).

3. Nuestros datos obtenidos en las fórmulas abreviadas también serán utilizados para validar la LSS descrita por De Winter et al.⁷¹ en receptores de riñón que recibieron EC-MPS y no fueron co-tratados con ciclosporina ($AUC_{0-12h} = 23,771 + 1,211 \times C_{0.5h} + 1,274 \times C_{1h} + 1,334 \times C_{3h}$) así como validar la mejor LSS desarrollada por Capone et al. en pacientes de trasplantados renales tratados con ciclosporina⁷⁰ ($AUC_{0-12h} = 22,906 + 3,880 \times C_{0h} + 1,117 \times C_{1h} + 7,527 \times C_{8h}$, y $AUC_{0-12h} = 35,064 + 3,784 \times C_{0h} + 1,002 \times C_{1h} + 1,192 \times C_{2h}$), y por último también las LSS de Sommerer et al.⁷² ($AUC_{0-12h} = 8,36 + 1,61 \times C_{1h} + 0,75 \times C_{2h} + 1,63 \times C_{3h} + 4,13 \times C_{8h}$; y $AUC_{0-12h} = 2,4 + 1,70 \times C_{1h} + 0,78 \times C_{2h} + 0,99 \times C_{3h} + 2,15 \times C_{4h}$).

6.9 CONSIDERACIONES ÉTICAS

6.9.1 Consideraciones generales

Este estudio se llevó a cabo en cumplimiento con el protocolo, de acuerdo con los principios derivados de la Declaración de Helsinki (Tokio 2004) y siguiendo la normativa legal vigente, para asegurar la adhesión a las buenas prácticas clínicas

6.9.2 Consideraciones sobre las muestras

Las muestras obtenidas para la realización de este estudio en ningún caso han sido ni serán utilizadas para investigaciones distintas de las especificadas en este protocolo. Los pacientes tienen derecho a solicitar la destrucción de las mismas en cualquier momento, sin justificar su decisión. La solicitud se realizaría a través de su médico, quien se dirigiría al investigador del estudio, o persona en quien éste

delegue, para hacer llegar la información al laboratorio de genómica.

Bajo ninguna justificación las muestras han salido ni saldrán fuera de la custodia del laboratorio central, donde transcurridos cinco años serán destruidas.

6.9.3 Consideraciones sobre los test de calidad de vida y síntomatología gastrointestinal:

Los test fueron rellenos por el propio paciente fuera de la consulta médica y en ausencia de personal sanitario para evitar interferencias en las respuestas, sólo se permitió el contacto con personal sanitario si había alguna duda respecto a los términos médicos que no comprendieran bien. La investigación se llevó a cabo de acuerdo con las directrices actuales para la Buena Práctica Clínica y en cumplimiento de los principios éticos de la Declaración de Helsinki. La aprobación de la opinión del Comité de Ética institucional se obtuvo en nuestro centro antes de iniciar el estudio.

6.10 Información a los participantes del estudio

A cada sujeto que se le solicitó la participación en el estudio, se le entregó un documento escrito denominado "Hoja de información para el paciente", que contenía la información relevante y necesaria sobre el estudio, en una terminología comprensible para él (se adjunta en ANEXO III).

Fue responsabilidad de los investigadores participantes y pertenecientes al servicio de Nefrología obtener el consentimiento informado de cada paciente que participe en el estudio, después de explicarle los objetivos, métodos, ventajas y riesgos potenciales del estudio. El consentimiento debía obtenerse antes de realizar cualquier procedimiento específico del estudio. Se informó a cada paciente, completa e inequívocamente, que era libre de rechazar la participación en el estudio o que podía retirar su consentimiento en cualquier momento y por cualquier razón, sin que se le pusiera ninguna sanción o se le negara el tratamiento por parte del investigador. Los investigadores se comprometieron a guardar el consentimiento informado firmado en un archivo y documentarlo en el cuaderno de recogida de datos y en los registros médicos de los pacientes.

El sujeto expresó su consentimiento preferiblemente por escrito o, en su defecto, de forma oral ante testigos independientes del equipo investigador, que lo declararon por escrito bajo su responsabilidad.

RESULTADOS



7 RESULTADOS

7.1 Resultados de Farmacogenómica en nuestra población.

7.1.1 Polimorfismo UGT1A9 T-275A y C2152T.

El total de pacientes a los que se les realizó el estudio del polimorfismo para C-2152-T y T275A de la región promotora del gen UGT1A9 fue de 873. Respecto a la frecuencia de los dos polimorfismos estudiados en nuestra población, encontramos el polimorfismo C-2152-T en 99 pacientes (95 fueron heterocigotos y 4 homocigotos) y el polimorfismo T275A en 108 pacientes (104 heterocigotos y 4 homocigotos) (Tabla 5).

Tabla 5. Frecuencia de distribución del polimorfismo UGT1A9 T-275A y C2152T en 873 trasplantados renales.

	POLIMORFISMO	POLIMORFISMO
	T 275 A	C2152T
	n (%)	n (%)
No portadores mutación	764 (87,5%)	773 (88,5%)
Total portadores mutación	108 (12,4%)	99 (11,4%)
Heterocigotos	104 (11,5%)	95 (10,9%)
Homocigotos	4 (0,5%)	4 (0,5%)
No tipado	1 (0,1%)	1 (0,1%)

7.2 Polimorfismo UGT1A9 T-275A y C2152T y tratamiento inmunosupresor.

A lo largo del estudio, se observaron cambios en la inmunosupresión por intolerancia gastrointestinal. De los 150 pacientes en tratamiento con AZA, 77 fueron cambiados a MMF y 57 pacientes a EC-MPS. 246 pacientes en tratamiento con MMF (de un total de 568), fueron convertidos a EC-MPS.

No observamos relación entre la presencia de los polimorfismos T275A y C2152 y el porcentaje de cambios a MPS por intolerancia gastrointestinal. (Tabla 6)

Tabla 6. Porcentaje de cambio a EC-MPS acorde con la presencia de polimorfismo.

	PORTADOR DE POLIMORFISMO T275A % (n:108)	PORTADOR DE POLIMORFISMO C2152 % (n:99)
Cambio a MPS	54,%(58)	52%(51)
No modificación de inmunosupresión	46%(50)	48%(48)
P	0,170	0,306

7.3 Polimorfismo UGT 1 A9 y evolución post-trasplante:

Se realizó análisis de supervivencia en los trasplantes renales consecutivos que se llevaron a cabo entre el año 2004 y el 2013, puesto que en periodos

anteriores un porcentaje alto de pacientes que habían perdido el injerto no habían sido tipados. El número de trasplantes realizados en este periodo fue de 768. No se pudieron tipar 143 pacientes (15.6%) de los cuales 93 recibieron un injerto no viable o sufrieron pérdida del mismo por complicaciones quirúrgicas en el inmediato post-trasplante, 33 no se tiparon y los 17 restantes murieron en el inmediato post-operatorio.

Respecto a la relación entre el hallazgo del polimorfismo y la supervivencia del injerto al año, quinto año y decimo año después del trasplante, no se objetivaron diferencias en la supervivencia del injerto cuando se estratificaron los pacientes por los distintos polimorfismos. (Tabla 7, Figura 8)

Tabla 7. Supervivencia del injerto en relación con el estado de portador de los polimorfismos T275A y C2152T.

SUPERVIVENCIA DEL INJERTO (AÑOS)	PORTADOR DE SNP C2152		PORTADOR DE SNP T275A	
	n (%)		n (%)	
	NO	SI	NO	SI
1 AÑO	488(95,9%)	63(96,9%)	481(96,0%)	72(96,0%)
5 AÑOS	299(90,0%)	34(86,8%)	292(90,3%)	41(86,0%)
10 AÑOS	44(85,5%)	5(86,8%)	44(85,6%)	5(86,0%)
P	0.733		0,982	

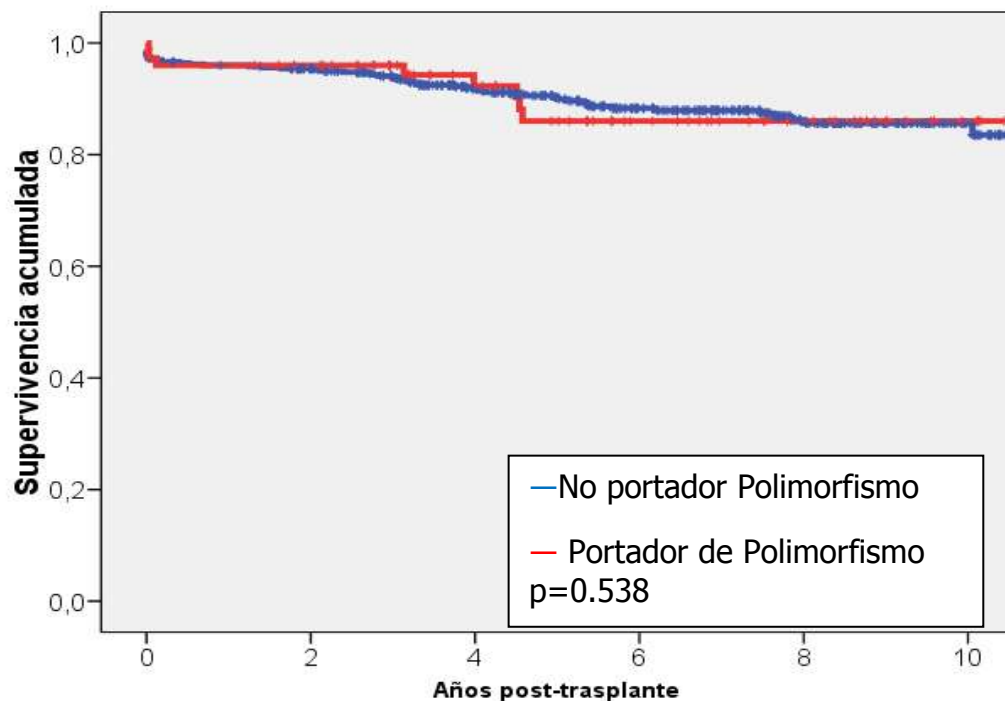


Figura 8. Supervivencia del injerto según el estado de portador del SNP a lo largo de 10 años.

Cuando analizamos la causas de muerte de los 768 pacientes realizados entre el año 2004 y el 2013, **se observó mayor probabilidad de muerte del paciente en los portadores del polimorfismo** respecto de los no portadores ($p= 0,001$) .Figura 9.

Supervivencia Paciente

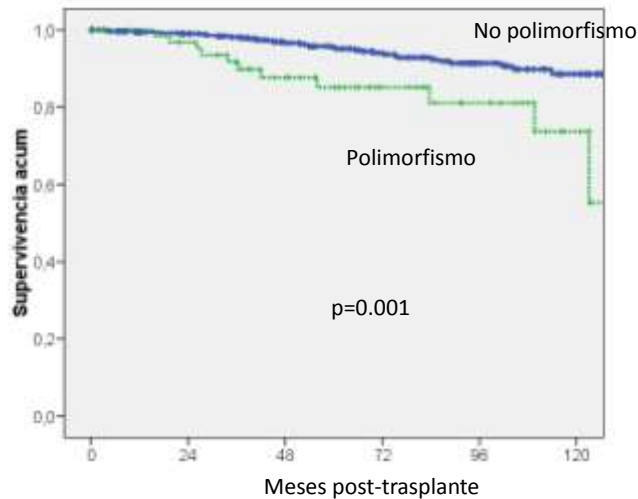


Figura 9. Supervivencia del paciente según el estado de portador del SNP a lo largo de 120 meses.

Encontramos un mayor porcentaje de muerte por cáncer entre los portadores del SNP comparada con los no portadores,, como se puede ver en la figura 10,. Además objetivamos que **los trasplantados renales portadores del polimorfismo presentan una mayor incidencia acumulada de muertes a causa de tumores gastrointestinales** (4 de 7 portadores del SNP fallecidos a causa de cáncer) frente a solo 1 de los 10 pacientes no portadores fallecidos a causa de cancer.

EVOLUCION PACIENTE

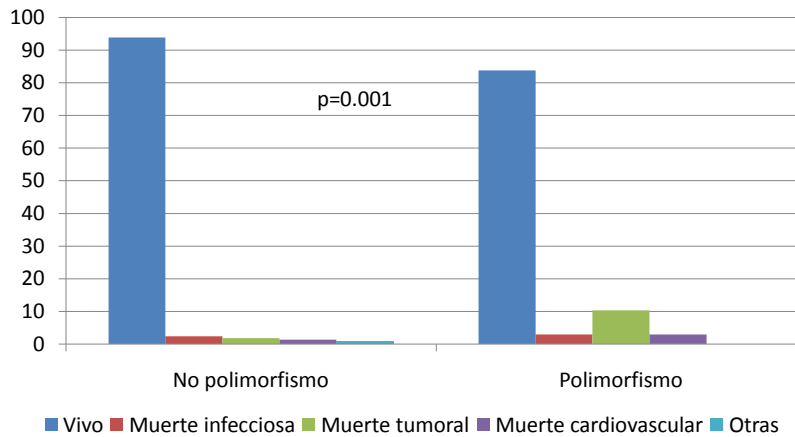


Figura 10.Causa de muerte del paciente según el estado de portador del SNP.

7.4 Rechazo agudo del injerto y polimorfismos

La incidencia de rechazo agudo del injerto fue similar en la población, tuviera o no el polimorfismo T275A (33% en portadores vs 35,8% en no portadores) o el polimorfismo C2152 (33,1% en portadores vs 35% en no portadores) figura 11.

PROBABILIDAD DE ESTAR LIBRE DE RECHAZO

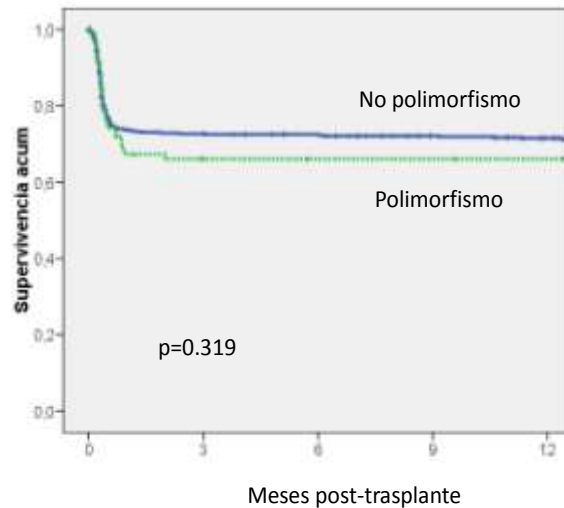


Figura 11. Incidencia de rechazo agudo al año de seguimiento en portadores del SNP

Respecto a los pacientes que presentaron rechazo, no observamos diferencias estadísticas entre el porcentaje de rechazos no vasculares y los rechazos vasculares en relación con la presencia del polimorfismo T275A o el polimorfismo C2152. Tabla 8.Figura 12 y 13.

Tabla 8. Relación entre la presencia de rechazo agudo del injerto y el estado de portador de los polimorfismos T275A y C2152T. Valores expresados en número de pacientes (porcentaje).

	PORTADOR DE POLIMORFISMO T275A	NO PORTADOR DE POLIMORFISMO T275A	p	PORTADOR DE POLIMORFISMO C2152	NO PORTADOR DE POLIMORFISMO C2152	P
Rechazo Novascular	9(12,0%)	51(10,2%)	0,635	7(10,8%)	53(10,4%)	0,929
Rechazo Vascular	19.6%	94(18,8%)	0,187	16(24,6%)	97(19,6%)	0,285

PROBABILIDAD DE ESTAR LIBRE DE RECHAZO NO VASCULAR

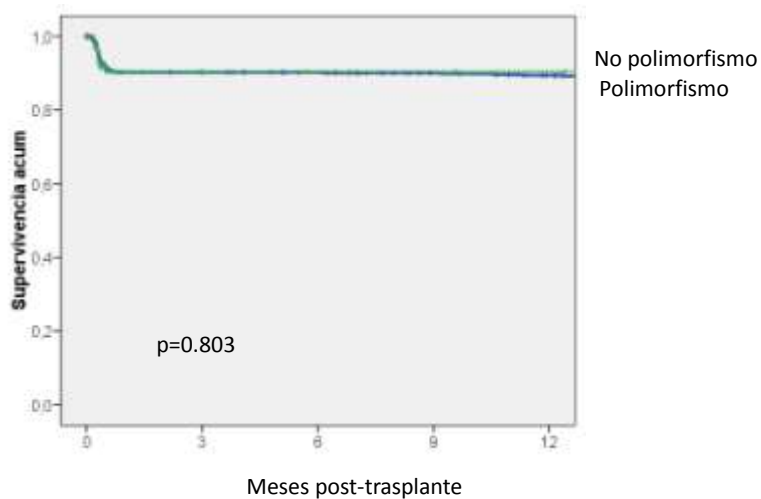


Figura 12. Incidencia de rechazo agudo no vascular en portadores del SNP

PROBABILIDAD DE ESTAR LIBRE DE RECHAZO VASCULAR

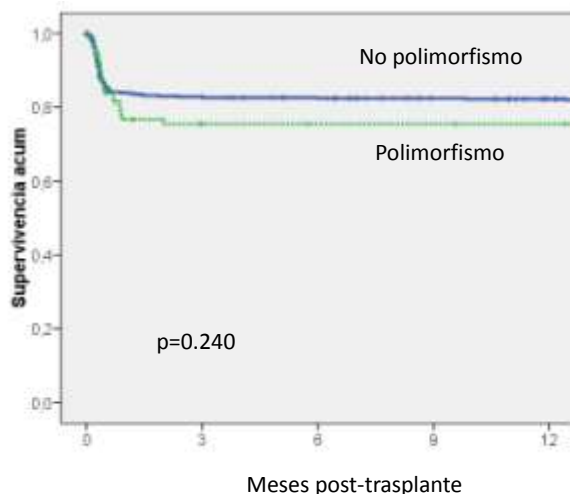


Figura 13. Incidencia de rechazo agudo vascular en portadores del SNP

7.5 Resultados de la relacion entre las encuestas sobre intolerancia gastrointestinal y los polimorfismos UGT1A9 T-275A Y C2152T.

En total se hicieron encuestas a 648 pacientes, ya que seis pacientes no completaron el test GSRS y otros siete no realizaron adecuadamente el test GIQLI.

Dentro de los pacientes que realizaron los test, 81 pacientes (12,5%) presentaban el polimorfismo T275A, siendo 4 de ellos homocigotos (0,6%) y 77 heterocigotos (11,9%). Los restantes 566 pacientes no presentaban el polimorfismo (87,3%) y un paciente no pudo ser genotipado. El polimorfismo

C2152 apareció en 74 pacientes (11,3%), 70 eran heterocigotos (10,8%) y 3 homocigotos (0,5%). Los restantes 573 pacientes no presentaban el polimorfismo (88,6%) y un paciente no pudo ser genotipado.

7.5.1 RESULTADO DE GSRS

El Gastrointestinal Symptom Rating Scale tiene 5 subescalas (reflujo, diarrea, estreñimiento, dolor abdominal e indigestión) con 7 grados de respuesta (mayor grado, mayor sintomatología gastrointestinal). Las cifras medianas de la puntuación obtenida fueron 13 puntos (RIC 6-22 puntos). Cuando se separó a los pacientes según presentaran o no el polimorfismo T275A, los valores medianos para los que los presentaban eran 11 puntos (RIC 6-21 puntos) y para los que no presentaban el polimorfismo T275A eran 13 puntos (RIC 6-22 puntos) ($p=0,618$).

Los resultados del test GSRS de los pacientes según presentaran o no el polimorfismo C2152, fueron 13 puntos (RIC 6-22 puntos) para los que no presentaban el polimorfismo y 12 puntos para los que lo presentaban (RIC 6-21 puntos) ($p=0,603$), es decir **no hallamos diferencias estadísticamente significativas entre la presencia o no del polimorfismo y el grado de sintomatología intestinal.**

Si estratificamos el resultado de este test teniendo en cuenta si los pacientes tenían asociado tratamiento con micofenolato o no, los valores medianos fueron 13 puntos (RIC 7-23,5 puntos) para pacientes sin micofenolato, 11,5 (RIC 5-19)

para los tratados con MMF y 15 (RIC 7-24) para los que recibían micofenolato sódico ($p=0,033$); **Es decir presentan más sintomatología digestiva el grupo en tratamiento con EC-MPS pero** debemos recordar que **desde su salida al mercado, los pacientes que presentan sintomatología gastrointestinal aguda importante en tratamiento con MMF fueron convertidos a micofenolato sódico.** De ahí que sean ellos los que más efectos adversos digestivos presentaban. En las tablas 9 y 10 se dan los valores medianos estratificando por la presencia o ausencia del polimorfismo y por el tratamiento asociado.

TABLA 9 .Valores medianos del test GSRS estratificando por la presencia o ausencia del polimorfismo T275A y por el tratamiento asociado.

	SNP T275A Mediana (RIC)	No SNP T275A Mediana (RIC)	P
NO MICOFELOATO	14 (6,5-45,5) (N=5)	13 (7-22) (N=39)	0,550
MMF	13 (5-21) (N=28)	11 (5-18))N=210)	0,838
MPS	11(7-21) (N=48)	15 (7-24) (N=317)	0,303
p	0,769	0,002	

TABLA 10. Valores medianos del test GRSR estratificando por la presencia o ausencia del polimorfismo C2152 y por el tratamiento asociado.

	SNP 2152 mediana (RIC)	No SNP 2152 mediana (RIC)	P
NO MICOFELONATO	14 (9-45,5) (N=5)	12,5 (7-21,7) (N=36)	0,513
MMF	11 (5-22,3) (N=27)	11,5 (5-18) (N=207)	> 0,999
MPS	11,5 (7-21,3) (N=42)	15 (7-24) (N=330)	0,437
P	0,487	0,003	

(RIC): rango intercuartil

De los pacientes tratados con micofenolato sódico (568 pacientes), 246 habían sido convertidos desde micofenolato mofetil por intolerancia gastrointestinal. Si los analizamos separadamente objetivamos una alta puntuación mediana en la escala GSRS tanto los que no presentaban el polimorfismo T275A (18, RIC 8-28 puntos) como los que lo presentaban (15, RIC 7-22 puntos). Cuando analizamos los pacientes que no fueron convertidos a micofenolato sódico por intolerancia gastrointestinal a micofenolato mofetil, objetivamos valores medianos más bajos de puntuación, tanto en los pacientes con el polimorfismo (9.5, RIC 6-19.3) como en aquellos que no lo tenían (11.8, RIC 6-19).

Respecto al polimorfismo C2152, cuando se analizó el subgrupo de pacientes tratados con micofenolato sódico de inicio y no cambiados desde un tratamiento con micofenolato mofetil la puntuación en la escala GSRS bajó a niveles muy similares a los descritos con el polimorfismo T275A.

7.5.2 RESULTADO DEL TEST GIQLI

El Gastrointestinal Quality of Life Index (GIQLI) es un test de 36 ítems desarrollado para evaluar la calidad de vida gastrointestinal. Tiene 5 subescalas (síntomatología gastrointestinal, estatus emocional, función física y psicológica y uso de tratamiento medicamentoso), en este test a mayor puntuación mejor calidad de vida.

Si analizamos el resultado de este test teniendo en cuenta si los pacientes tenían asociado tratamiento con micofenolato o no y portaban el SNP, observamos que **para los portadores de SNP, se observaba que la puntuación era mayor** (es decir, mejor calidad de vida) **en los pacientes con EC-MPS, comparados con los que recibían MMF ($p=0,039$).** Al igual que en el grupo que no tenía el SNP, se objetivó una mayor puntuación en el grupo en tratamiento con EC-MPS ($p=0,016$).

Es decir, presentaban peor calidad de vida el grupo en tratamiento con MMF.

TABLA 11. Valores medios del test GIQLI estratificando por la presencia o ausencia del polimorfismo T275A y por el tratamiento asociado.

	SNP T275A	No SNP T275A	P
	Media (DE)	Media (DE)	
	N	n	
NO MICOFELONATO	85 (50-120) n=5	106 (99-112) n=39	0,065
MMF	105 (99-110) n=28	105 (103-107) n=210	0,254
MPS	106 (100-110) n=48	107 (105-108) n=317	0,905
P	0,039	0,016	

(DE): Desviación estándar.

7.6 Resultado del estudio Farmacocinético según el SNP UGT1A9

Se realizó el estudio farmacocinético a 169 pacientes. La dosis elegida para la realización de la curva fue la misma que habitualmente tomaba el paciente por la mañana. La dosis objetivo en los pacientes era 1g de MMF o 720 mg de MPS, que podía reducirse hasta la desaparición de la sintomatología en casos de toxicidad gastrointestinal. Los datos de la inmunosupresión acompañante y el AUC se recogen en la siguiente tabla 12.

Tabla 12. Valores medios de AUC_{0-12h} de MPA y tratamiento inmunosupresor acompañante.

	N	AUC_{0-12h}	Dosis MPA*
		media (DE)	media (DE)
Ciclosporina	11	58,4 (21,6)	705 (292)
Tacrólimus	132	64,2 (28,3)	674 (249)
ImTOR	23	59,0 (30,3)	544 (194)
Otros	3	61,7 (43,3)	417 (144)
P		0,806	0,033

*(Se ajustan las dosis equivalentes de MPS a MMF multiplicando por 1.39)

Para comparar la farmacocinética según los polimorfismos se estudiaron los pacientes tratados con tacrólimus. Se observaron 53 pacientes que presentaban tanto el SNP en la posición T275A y 2152. En la tabla 13 se resumen los datos del AUC_{0-12h} estratificando por la presencia o no del polimorfismo, el tipo de micofenolato asociado y el AUC correspondiente. La función renal, superficie corporal, sexo, edad y albúmina fueron similares en ambos grupos.

Tabla 13. Dosis medias de MPA y AUC₀₋₁₂ usadas en el estudio farmacocinético estratificando por la presencia o ausencia de los SNP UGT1A9

	SNP UGT1A9		No SNP UGT1A9		P	
	AUC ₀₋₁₂	Dosis	AUC ₀₋₁₂	Dosis	AUC ₀₋₁₂	Dosis
MMF	53,9 (15,4) n=20	625 (190) n=20	63,6 (30,2) n=38	750 (273) n=38	0,114	0,047
EC-MPS	65,9 (25,3) n=23	674 (219) n=23	67,8 (31,5) n=51	637 (256) n=51	0,795	0,554
P	0,05	0,442	0,521	0,049		

*(Se ajustan las dosis equivalentes de EC-MPS a MMF multiplicando por 1.39).

Los resultados se expresan en medias con sus respectivas desviaciones estandar (DE).

Los pacientes con el SNP y tratados con MMF presentaban un AUC₀₋₁₂ menor que aquellos que recibían EC-MPS (53,9±15,4 vs 65,9±25,3 mg*h/L; p=0,05) sin existir diferencias entre las dosis (625±190 vs 674±219 mg; p=0,442).

Dentro del grupo de pacientes tratados con MMF el AUC era menor aunque no estadísticamente significativa en los pacientes que presentaban el polimorfismo (53,9±15,4 vs 63,6±30,2 mg*h/L; p=0,114) probablemente en relación a que toleraban dosis menores de MMF (625±190 vs 750±273 mg; p=0,047).

Sin embargo, con el tratamiento con EC-MPS las AUC eran iguales en portadores o no portadores del polimorfismo ($65,9 \pm 25,3$ vs $67,8 \pm 31,5$ mg*h/L, $p=0.795$) al igual que las dosis (674 ± 219 vs 637 ± 256 mg, $p=0,554$)

7.6.1 Repetición de estudio farmacocinético

Se realizó doble estudio farmacocinético a 27 pacientes, 17 con el polimorfismo y 10 sin él. En el primer estudio fueron tratados con MMF y en el segundo con EC-MPS a dosis equivalentes. En los pacientes portadores del polimorfismo del gen UGT se objetivó una mayor área bajo la curva cuando fueron tratados con EC-MPS. Estas diferencias no se objetivaron en los sujetos sin el SNP. La tabla 14 resume los datos.

Tabla 14. AUC_{0-12h} de MPA estratificada según el SNP UGT 1A9 y el tipo de micofenolato estudiado

	MMF	EC-MPS	P
Sujetos con polimorfismo			
AUC_{0-12h}	55,4 (14,0)	65,9 (22,7)	0,015
AUC_{0-6h}	35,4 (9,8)	45,1 (15,5)	0,011
AUC_{6-12h}	18,0 (7,4)	20,8 (10,1)	0,206
Sujetos sin polimorfismo			
AUC_{0-12h}	64,4 (18,2)	62,4 (24,5)	0,771
AUC_{0-6h}	39,4 (13,9)	38,7 (18,3)	0,912
AUC_{6-12h}	25,0 (6,4)	23,7 (10,1)	0,552

7.7 Resultados de la presencia del Polimorfismo UGT 1 A9 y otros efectos adversos del MPA.

Otros efectos adversos frecuentes secundarios al tratamiento con MMF son las discrasias sanguíneas. Nosotros no hemos encontrado asociación significativa entre el AUC de MPA > 60 mg.h/L y la presencia de anemia (hematocrito menor a 25%), leucopenia (cifra de leucocitos menor a 5000 c/mm³), plaquetopenia (cifra de plaquetas menor a 150.000/mm³). Tabla 15.

Tabla 15. Polimorfismo T275A y discrasias sanguíneas en pacientes con AUC > 60.

	SNP T275A Media (DE) (N=12)	No SNP T275A Media (DE) (N=35)	P
Leucocitos (c/mm³)	6.966 (1581,9)	6414,2 (1548,6)	0,761
Plaquetas (c/mm³)	214 (54.548)	208.77 (60.444)	0,266
Hematocrito (%)	39,258 (4,85)	38,826 (3,88)	0,250

7.8 Fórmulas abreviadas para determinación del AUC_{0-12h} en pacientes tratados con EC-MPS y tacrólimus.

Uno de los objetivos principales de este estudio era determinar estrategias de muestreo limitado (LSS) para estimar el área bajo la curva (AUC_{0-12h}) en pacientes tratados con micofenolato de sodio recubierto (EC-MPS) y tacrólimus.

El estudio incluyó 71 pacientes (48 varones, 23 mujeres) con una edad media de 47,5 +/- 12,5 años, el tiempo mediano postrasplante fue de 29.5 meses

(RIC 13,5-76,2 meses) con función renal estable (Mediana de aclaramiento de creatinina, utilizando la fórmula de Cockcroft-Gault fue de $59,7 \pm 20,6$ ml/min). Como se describe en material y métodos, los 71 pacientes se dividen aleatoriamente en dos grupos, uno para hallar el modelo de curvas abreviadas que sean representativas del AUC real y otro grupo de validación, que se utilizará para testar la correlación entre el AUC_{0-12h} estimada con los LSS y el AUC_{0-12h} real medida. Las características generales de los pacientes se resumen en la tabla 16.

Tabla 16. Características generales de la población trasplantada renal sometida a estudio. (valores están expresados en media y DE, excepto sexo y pacientes con prednisona (%), y tiempo post-transplante, Tmax,C0h (mediana y rango intercuartil)

	Todos los pacientes	Grupo Modelo (N= 142)	Grupo Validación (N= 24)	p entre grupos
Edad (años)	47,5 (12,5)	48,2 (12,7)	46,1 (12,3)	0,515
Sexo (% hombres)	67.6	70.2	62.5	0,511
Peso (Kg)	73,8 (14,1)	75,6 (14,9)	70,1(11,5)	0,128
Superficie corporal (m2)	1,8 (0 ,2)	1,9 (0 ,2)	1,8(0 ,2)	0,179
Creatinina Serica (mg/dL)	1,5 (0,6)	1,6 (0,6)	1,5 (0,6)	0,41
Aclaramiento de Creatinina (IU/L)	59,7 (20,6)	60,2 (22,2)	58,8 (17,3)	0,265
Aspartato aminotrasferasa (IU/L)	19,6 (7,7)	20,5 (8,4)	17,7 (5,8)	0,151
Gamma Glutamil transaminasa (IU/L)	20,4 (1.01)	21,7 (10,88)	17,9 (8,4)	0,129
Bilirrubina total (mg/dL)	0,72 (0.40)	0,76 (0,45)	0,64 (0,26)	0,235
Hematocrito (%)	39,3 (4,0)	38,9 (4,1)	39,9 (4,0)	0,344
Albúmina Sérica (g/dL)	4,43 (0.34)	4,40 (0,35)	4,40 (0,32)	0,922
Tiempo post-transplante (meses)	29,5 (1,5-76,2)	29,2 (13,5-79,5)	26,1 (13,0-69,1)	0,688
Curva dosis (mg)	461,4 (174,1)	467,2 (182,6)	450,0 (159,2)	0,696
% pacientes sin prednisona	47,9	46,8	50,0	0,799
Dosis de prednisona (mg/dia)	7,6 (5,6)	7,9 (6,5)	7,0 (2,8)	0,644
Dosis de tacrólimus (mg/dia)	3,75 (2,31)	3,41 (2,16)	4,42 (2,49)	0,083
Niveles valle de tacrólimus (ng/mL)	8,03 (2,32)	7,77 (2,27)	8,55 (2,36)	0,182
AUC _{0-12h} (mg·h ⁻¹ ·L ⁻¹)	67,2 (29,4)	64,3 (27,6)	73,0 (32,5)	0,269
C _{max} (mg/L)	27,3 (13,1)	26,9 (13,2)	28,2 (13,2)	0,683
T _{max} (min)	120 (120-90)	120 (90-150)	120 (125-150)	0,912
C _{0h} (mg/L)	3,2 (2,2-5,2)	3,2 (2,0-4,9)	3,2 (2,5-6,2)	0,804

7.8.1 RESULTADOS DEL SUBESTUDIO DE FÓRMULAS

ABREVIADAS PARA DETERMINACIÓN DEL AUC_{0-12h}

Los estudios fármacocinéticos en el grupo de estudio y de validación se muestran en la siguiente figura 14.

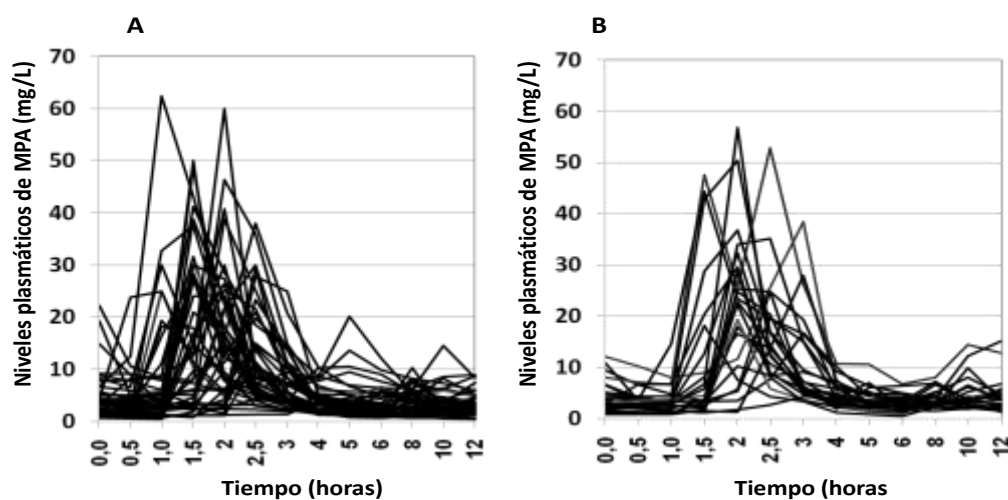


Figura 14 .Perfiles farmacocinéticos de MPA en el grupo modelo (A) y en el grupo de validación (B).

Observamos que la correlación entre el AUC_{0-12h} y las dosis de EC-MPS fue pobre ($r^2=0,014$; $p=0,162$).

La tabla 17 muestra las correlaciones entre los niveles de MPA en los distintos tiempos estudiados y el AUC_{0-12h} . El mayor valor de r^2 usando un solo punto fue obtenido con la determinación realizada a las 4 horas ($AUC_{0-12h} = 28,56 + 9,06 \cdot C_{4h}$; $r^2 = 0,604$; $p < 0,001$) y a las 6 horas ($AUC_{0-12h} = 37,15 + 8,41 \cdot C_{6h}$; $r^2 = 0,600$; $p < 0,001$). Como se puede ver en la figura 15 los niveles predosis o valle mostraron mala correlación ($r^2 = 0,121$; $p = 0,010$).

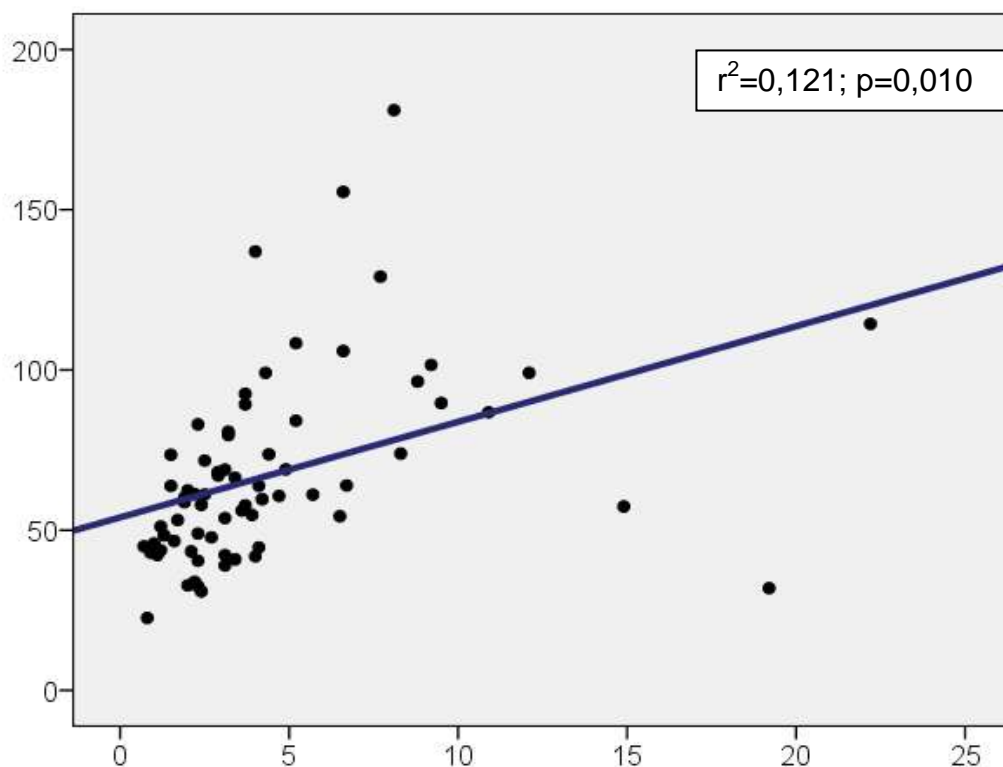


Figura 15. Correlación entre el AUC_{0-12h} y los niveles de MPA valle (C0).

Tabla 17. Correlación univariada entre las concentraciones de MPA en los distintos puntos estudiados y el AUC_{0-12h} en el grupo de estudio (n=47)

Muestra, tiempo (horas)	r²ajustada	p
0	0,121	0,010
0,5	0,272	<0,001
1	0,263	<0,001
1,5	0,121	0,009
2	0,155	0,004
2,5	0,075	0,035
3	0,127	0,008
4	0,604	<0,001
5	0,587	<0,001
6	0,600	<0,001
8	0,232	<0,001
10	0,404	<0,001
12	0,593	<0,001

Las fórmulas de predicción y sus valores r^2 para la estimación del AUC_{0-12h} de MPA con dos o tres combinaciones de puntos en el tiempo se muestran en la tabla 18.

Para 2 puntos en el tiempo los mejores predictores fueron $C_{1.5h}$ y C_{4h} ($AUC_{0-12h} = 16,38 + 0,76 * C_{1.5h} + 9,18 * C_{4h}$; $r^2 = 0,758$, $p < 0,001$; coeficiente de correlación intraclass (CCI) 0,87 [IC 95%, 0,78-0,93; $p < 0,001$]).

Para 3 puntos, los valores más adecuados fueron C_{1h} , C_{2h} , y C_{4h} ($AUC_{0-12h} = 15,99 + 0,87 C_{1h} + 0,68 C_{2h} + 7,85 C_{4h}$; $r^2 = 0,843$, $p < 0,001$; 95%, CCI:0,92 [IC 95% , 0,87-0,96; $p < 0,001$]).

Si aumentamos el número de puntos a cuatro determinaciones, mejoraba el modelo predictivo (Tabla 19). Los mejores puntos fueron C_{1h} – $C_{1.5h}$ – C_{2h} – C_{4h} ($r^2 = 0,888$; $AUC_{0-12h} = 11,15 + 0,68 * C_{1h} + 0,45 * C_{1.5h} + 0,57 * C_{2h} + 8,16 * C_{4h}$). El CCI fue 0.95 (IC 95% , 0,91-0,97; $p < 0,001$).

Tabla 18. Regresión lineal múltiple para estimar AUC_{0-12h} usando 2 o 3 puntos

Modelo		Coeficientes no Estandarizados		p	95% CI for B		r^2_{ajust}
		B	ES		Lower	Upper	
1	(Constante)	24,864	4.060	<0.001	16.681	33.046	0,741
	C_{1h}	0.927	0.186	<0.001	0.551	1.303	
	C_{4h}	8.139	0.887	<0.001	6.350	9.927	
2	(Constante)	16.377	4.456	0.001	7.397	25.358	0,758
	$C_{1.5h}$	0.761	0.140	<0.001	0.479	1.042	
	C_{4h}	9.175	0.838	<0.001	7.485	10.864	
3	(Constante)	29.883	3.903	<0.001	22.016	37.749	0.728
	C_{2h}	0.812	0.164	<0.001	0.481	1.143	
	C_{5h}	5.850	0.597	<0.001	4.647	7.053	
4	(Constante)	25.972	4.111	<0.001	17.687	34.258	0.731
	C_{2h}	0.784	0.164	<0.001	0.454	1.114	
	C_{6h}	8.151	0.826	<0.001	6.486	9.815	
5	(Constante)	15.992	3.557	<0.001	8.818	23.167	0.843
	C_{1h}	0.870	0.146	<0.001	0.577	1.164	
	C_{2h}	0.684	0.126	<0.001	0.430	0.937	
	C_{4h}	7.846	0.693	<0.001	6.448	9.243	
6	(Constante)	16.625	3.847	<0.001	8.866	24.384	0.820
	C_{1h}	0.665	0.166	<0.001	0.330	0.999	
	$C_{1.5h}$	0.580	0.129	<0.001	0.320	0.839	
	C_{4h}	8.488	0.744	<0.001	6.988	9.988	
7	(Constante)	11.008	4.069	0.010	2.802	19.215	0.820
	$C_{1.5h}$	0.633	0.125	<0.001	0.382	0.884	
	C_{2h}	0.557	0.139	<0.001	0.278	0.837	
	C_{4h}	8.870	0.727	<0.001	7.403	10.337	

Tabla 19 . Regresión lineal múltiple para estimar AUC_{0-12h} usando 4 puntos

Modelo	Coef. no estandarizados		p	95% CI for B		r^2_{ajust}
	B	SE		Lower	Upper	
1 (Constante)	11,153	3,220	0,001	4,655	17,650	0,888
C_{1h}	0,678	0,131	<0,001	0,413	0,943	
$C_{1,5h}$	0,446	0,105	<0,001	0,234	0,658	
C_{2h}	0,569	0,110	<0,001	0,347	0,790	
C_{4h}	8,163	0,591	<0,001	6,970	9,357	
2 (Constante)	16,060	3,117	<0,001	9,769	22,351	0,879
C_{1h}	0,671	0,138	<0,001	0,393	0,950	
C_{2h}	0,698	0,110	<0,001	0,476	0,921	
C_{4h}	5,519	0,869	<0,001	3,766	7,273	
C_{6h}	3,240	0,866	0,001	1,492	4,987	
3 (Constante)	14,202	3,156	<0,001	7,833	20,571	0,879
C_{1h}	0,915	0,128	<0,001	0,657	1,174	
C_{2h}	0,678	0,110	<0,001	0,455	0,900	
C_{4h}	5,779	0,822	<0,001	4,119	7,438	
C_{10h}	2,828	0,758	0,001	1,299	4,357	
4 (Constante)	13,910	3,098	<0,001	7,658	20,162	0,884
C_{1h}	0,809	0,126	<0,001	0,555	1,063	
C_{2h}	0,667	0,108	<0,001	0,449	0,885	
C_{4h}	4,899	0,941	<0,001	2,999	6,799	
C_{12h}	4,226	1,046	<0,001	2,115	6,337	
5 (Constante)	4,890	4,110	0,241	-3,40	13,184	0,880
$C_{1,5h}$	0,818	0,104	<0,001	0,608	1,028	
$C_{2,5h}$	1,342	0,162	<0,001	1,015	1,668	
C_{5h}	4,410	0,448	<0,001	3,505	5,315	
C_{8h}	3,670	0,684	<0,001	2,291	5,050	

Cuando el AUC_{0-12h} calculada basado en 3 puntos de tiempo obtenido con el modelo predictivo fue testado en el grupo de validación obtuvimos que el CCI fue de 0,79 (IC 95% : 0,57-0,97; $p < 0,001$). El error medio de la validación fue -0,21 y estadísticamente igual a cero ($p = 0,956$), indicando ausencia de sesgo en esta combinación de tiempo (C1h, C2H y C4H). Para la LSS basado en 4 puntos de tiempo, la CCI era 0,85 (IC 95%: 0,70- 0,93) con un error medio de -1,48 ($p = 0,666$ vs cero). Además, el coeficiente de correlación (r^2) y los valores de precisión no empeoraron significativamente. En el grupo de validación más del 75 % del AUC_{0-12h} estimada con las LSS de 3 y 4 puntos de tiempo respectivamente, estaban dentro del 75%-125 % del AUC_{0-12h} real.. Observamos que el porcentaje de AUC_{0-12h} predictiva dentro del 15% del AUC_{0-12h} real fue 68% y 77% para las LSS con 3 y 4 puntos respectivamente.

La tabla 20 resume el desarrollo predictivo de las curvas abreviadas usando la concentración predosis (C_{0h}), el mejor modelo obtenido con 3 puntos (C_{1h} , C_{2h} , y C_{4h}) y con 4 (C_{1h} , $C_{1.5h}$, C_{2h} , y C_{4h}).

La figura 16 muestra la correlación entre el AUC_{0-12h} observada y la AUC_{0-12h} predictiva, con una ecuación que implica una combinación de tres tiempos (C_{1h} , C_{2h} , y C_{4h}) (Figura 16A) y una combinación de cuatro tiempos (C_{1h} , $C_{1.5h}$, C_{2h} , y C_{4h}) (Figura 16B) en el grupo de estudio y en el grupo de validación (Figura 16C y 16D), respectivamente.

Tabla 20. Desarrollo predictivo de las curvas abreviadas

	Grupo de estudio			Grupo de validación			
	r^2 ajust.	Sesgo (mg*h*L-1)	Precisión (mg*h*L-1)	r^2 ajust.	Sesgo (mg*h*L-1)	Precisión (mg*h*L-1)	Dentro 75-125% respecto a AUC completa (%)
C_{0h}	0,121	-0,002 (-7,446 a 7,443)	15,441 (10,312 a 21,435)	0,242	-8,708 (-20,676 a 3,259)	8,048 (5,660 a 16,763)	70,8
C_{1h}C_{2h}C_{4h}	0,843	0,004 (-3,072 a 3,079)	7,361 (4,496 a 9,605)	0,714	-0,214 (-7,909 a 7,481)	7,477 (3,686 a 19,388)	75
C_{1h}-C_{1,5h}-C_{2h}- C_{4h}	0,888	0,008 (-2,564 a 2,581)	5,293 (4,478 a 6,791)	0,76	-1,481 (-8,227 a 5,266)	7,683 (4,226 a 13,496)	79,2

La figura 17 muestra el gráfico de Bland-Altman para analizar la relación entre el AUC_{0-12h} real y el calculado, basándose en tres puntos (figura 17.A) o en cuatro puntos (figura 17.B)

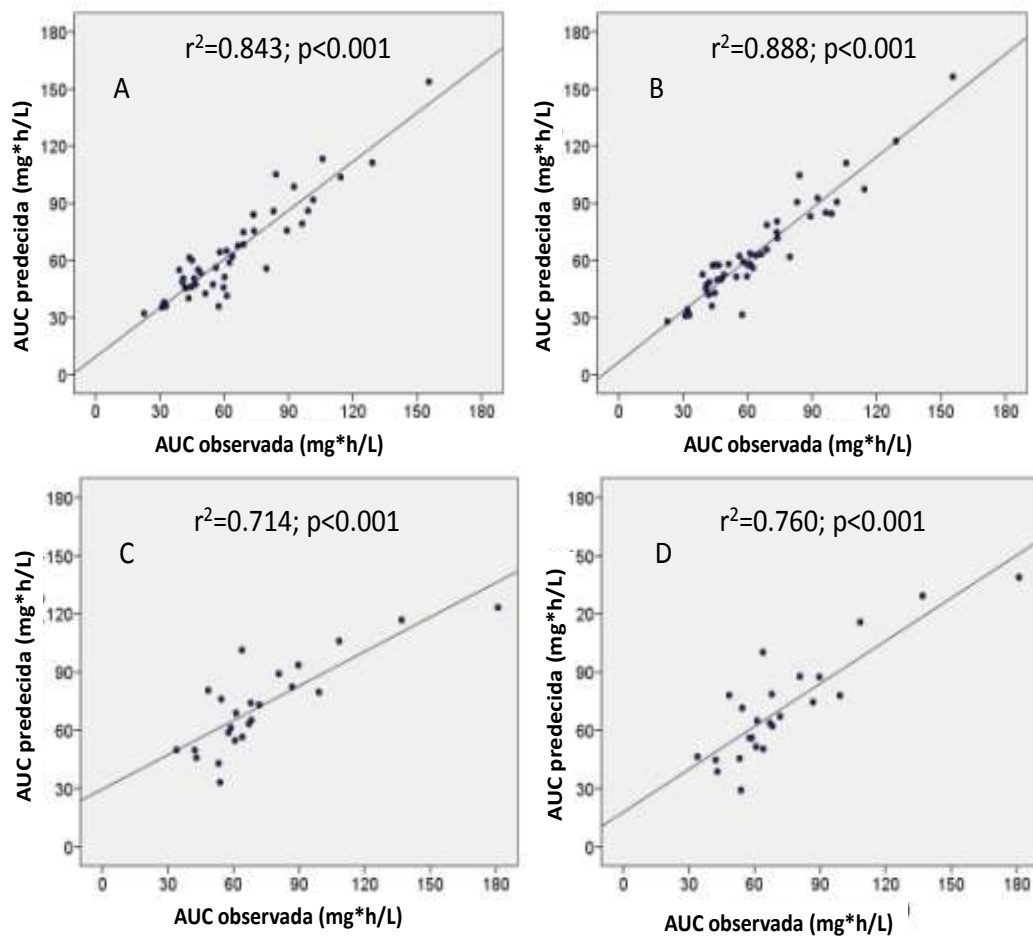


Figura 16. Correlación entre el AUC0-12h observada y la AUC0-12h predictiva, con una ecuación que implica una combinación de tres tiempos (C1h, C2h, y C4h) (Figura 16A) y una combinación de cuatro tiempos (C1h, C1.5h, C2h, y C4h) (Figura 16B) en el grupo de estudio y en el grupo de validación (Figura 16C y 16D, respectivamente).

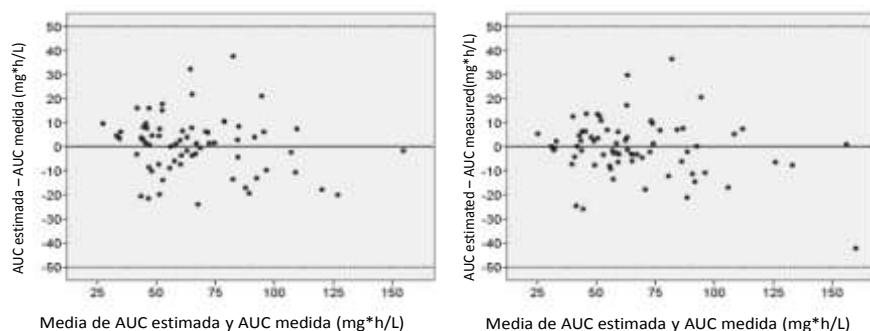


Figura 17. Análisis Bland-Altman para la asociación entre el AUC_{0-12h} real y el AUC_{0-12h} calculado basado en tres puntos de tiempo (Figura 17A) o cuatro puntos de tiempo (Figura 17B).

Sólo 1 paciente tuvo una AUC_{0-12h} real <30 mg. h/ L. Se calculó el sesgo específico por separado para 2 rangos del AUC_{0-12h} (el primero con AUC entre 30-60 mg.h-1/ L y el segundo con AUC > 60 mg.h/l) (Tabla 21). Como se observa en la tabla, el sesgo no es significativamente diferente de cero.

Tabla 21. Sesgo en las fórmulas abreviadas (LSS) separadas por 2 rangos de AUC_{0-12h} .

Rango AUC_{0-12} ($mg \cdot h^{-1} \cdot L^{-1}$)	LSS $C_{1h}-C_{2h}-C_{4h}$	LSS $C_{1h}-C_{1.5h}-C_{2h}-C_{4h}$
30-60	3,60 (-0,47 hasta 7,67) p=0,081	2.12 (-1,76 hasta 5,99) p=0,274
>60	-3,42 (-8,39 hasta 1,56) p=0,172	-2,85 (-7,0 hasta 1,31) p=0,174

Datos presentados sobre mediana (Intervalo de confianza 95%).

7.8.2 VALIDACION DE CURVAS DISEÑADAS PREVIAMENTE POR OTROS AUTORES.

Como describimos en la introducción, los estudios previos de fórmulas abreviadas para estimar la concentración de EC-MPS son de muy escaso valor estadístico, uno de nuestros objetivos era el de validar estas curvas abreviadas (LSS) en nuestra población, para ello, se aplicó la mejor LSS descrita por De Winter para receptores de riñón que reciben EC-MPS con tacrólimus, usando los

puntos que ellos daban a la media hora, primera hora y segunda hora ($C_{0.5h}$, C_{1h} y C_{2h}). El coeficiente de correlación (r^2) entre nuestro AUC_{0-12h} medido y los calculados con la fórmula de De Winter era peor ($r^2 = 0,388$) y el error medio era pobre, $-7,963$ (IC95%: $-13,574$ a $-2,353$) y estadísticamente distinto a cero ($p = 0,006$). Cuando se aplicó el LSS obtenido por Capone para pacientes en tratamiento con ciclosporina, los resultados también fueron imprecisos, con $r^2 = 0,388$, sesgo de $3,237$ (IC 95%: $3,670$ a $15,445$) y estadísticamente distinto a cero ($p = 0,002$) para la primera LSS, y $r^2 = 0,390$, sesgo de $4,143$ (IC 95%: $6,155$ a $17,585$) y distinto a cero ($p < 0,001$) para la segunda LSS.

Se obtuvieron unos resultados ligeramente mejores, pero aun inexactos utilizando las LSS descritas por Sommerer, también para receptores tratados con ciclosporina y EC-MPS, $r^2 = 0,695$, sesgo $-2,929$ (IC 95%: $-9,424$ a $-1,789$), $p = 0,005$ para la primera LSS y $r^2 = 0,650$, sesgo $-6,206$ (IC 95% : $-16,822$ a $-8,639$) y $p = 0,005$ para la segunda.

En resumen, proponemos dos tipos de fórmulas abreviadas y con significación estadística para monitorizar el EC-MPS. Una ecuación que implica una combinación con tres tiempos: primera hora, segunda hora y cuarta hora post administración del EC-MPS (C_{1h} , C_{2h} , y C_{4h}), y otra combinación de cuatro tiempos: primera hora, hora y media, segunda hora y cuarta hora post administración del EC-MPS (C_{1h} , $C_{1.5h}$, C_{2h} , y C_{4h}).

DISCUSIÓN



8 DISCUSIÓN

El Micofenolato mofetil presenta una gran variabilidad interindividual en los receptores de trasplante renal. Además son múltiples los factores que pueden contribuir a ella incluyendo una amplia variabilidad en la absorción, metabolismo hepático y el aclaramiento del MPA, al igual que las interacciones con los medicamentos asociados. **Por ello, siendo el ácido micofenólico uno de los medicamentos más ampliamente utilizado para el trasplante renal, es el inmunosupresor con una mayor falta de correlación entre la dosis y la concentración plasmática de MPA.**

Por otra parte, y dada esta circunstancia, existe entre los clínicos una necesidad real de conocer la concentración plasmática de MPA en algunos pacientes con un mayor riesgo de ineficacia o efectos adversos, en los que una reducción de dosis y niveles infraterapéuticos **han demostrado en diferentes estudios que se correlaciona con mayor incidencia de rechazo agudo.**

En un primer momento pensamos que los análisis farmacogenéticos podían identificar a pacientes con mayor riesgo de rechazo, puesto que la presencia del SNP UGT1A9 se relaciona con una menor exposición al fármaco; sin embargo, son muchos los estudios que no observaron una asociación entre el SNP y un mayor aumento en la incidencia de rechazo agudo ni descenso en la supervivencia del injerto.

Probablemente **existen tantos factores implicados en el pronóstico del trasplante renal** (factores dependientes del donante, del receptor, evolución del injerto y del paciente en el período postrasplante, medicaciones concomitantes) **que no parece suficiente que un solo polimorfismo pueda ser único indicador de la evolución a largo plazo del injerto renal.** Un informe reciente de la FDA de un Workshop sobre Farmacodinámica y farmacogenómica: Biomarcadores en Trasplante de Órganos sólido, concluyó que las distintas variantes del polimorfismo UGT no pueden ser incluidos únicamente como biomarcadores potenciales de la terapia inmunosupresora^{111,}

112

Aún así, pensamos que conocer el estado de portador UGT1A9 -275/-2152 complementado con la monitorización del MPA en sangre, sería sumamente útil para una mejor adecuación de la dosis necesaria y por consiguiente, lograr unos niveles de MPA dentro de la ventana terapéutica deseada. Es decir, hemos querido probar un nuevo **biomarcador que combinara el polimorfismo UGT 1 A9 con la monitorización del MPA, que pudiera ser utilizado de forma prospectiva** para detectar pacientes con mayor riesgo de rechazo, prever la respuesta a cambios en la medicación inmunosupresora y prevenir posibles efectos adversos a largo plazo.

Como hemos mostrado son muchos los estudios que han abordado aisladamente la farmacogenómica de MPA y farmacocinética en el trasplante

renal^{50, 51}. Sin embargo, **nunca se había realizado un estudio que englobara la farmacocinética del MPA, la farmacogenómica y su repercusión clínica en trasplantados renales.**

Analizaremos nuestros resultados en los siguientes apartados:

8.1 Polimorfismo del Gen UGT y su impacto en el trasplante renal:

8.1.1 Frecuencia del SNP en nuestra población.

Hemos observado que los polimorfismos T-275A y C-2152T son relativamente frecuentes en la población trasplantada (12,4% para el SNP T275A y 11,4% para el C-2152T) datos que concuerdan con los encontrados en otros estudios ya descritos^{43, 101}

8.1.2 Presencia del SNP y mortalidad del paciente.

Como se puede ver en la figura 10, los trasplantados renales, portadores del polimorfismo presentan una mayor incidencia acumulada de muertes a causa de tumores gastrointestinales, 4 de 7 portadores del SNP mueren de tumores gastrointestinales frente a solo 1 de 10 no portadores en el otro grupo.

Respecto a este resultado encontrado en nuestra población, no hemos encontrado ninguna asociación descrita entre los trasplantados renales portadores del polimorfismo UGT y una mayor incidencia de cáncer, sin embargo las variantes genéticas de esta isoenzima son bien conocidas en

Oncogenética, ya que este complejo enzimático es una de las principales vías de desintoxicación de aminas heterocíclicas e hidrocarburos aromáticos policíclicos presentes en los alimentos, conocidos por su potencial carcinogénico. **Están descritos numerosos estudios de los polimorfismos del gen UGT donde se asocia con el riesgo de varios tipos de cáncer, como el cáncer colorrectal, cáncer del tracto digestivo proximal, carcinoma hepatocelular y cáncer de próstata.**^{113, 114}

Desconocemos si nuestra población trasplantada portadora del SNP tiene más incidencia de cáncer debido a su condición de inmunosuprimido que la población general portadora, dado que en esta última no hemos encontrado porcentaje de cáncer asociado al SNP.

8.1.3 Presencia del SNP y rechazo del injerto.

La incidencia de rechazo agudo, tanto corticosensible como corticoresistente del injerto fue similar en la población, tuvieran o no el polimorfismo. La comparación de nuestros resultados con otros descritos previamente fue complicada ya que son muy pocos los estudios que han evaluado como un objetivo primario la relación entre la presencia de SNP de UGT 1 A9, la farmacocinética del MPA y la presencia de rechazo agudo del injerto. Tomando como referencia el estudio de Kuypers con 95 pacientes trasplantados de riñón de raza blanca en tratamiento con tacrólimus y esteroides, la relación entre la presencia de los SNP de UGT1A9 -275T> A y -2152C> T y la presencia de

rechazo agudo del injerto, fue estudiada y no se encontraron diferencias significativas entre portadores y no portadores ¹⁰¹ . En otro estudio de 218 pacientes trasplantados de riñón, en su mayoría de raza blanca, en tratamiento con tacrólimus y esteroides, se estudiaron estos SNP y no se encontró ninguna asociación con la presencia de rechazo agudo en el primer año después del trasplante.¹¹⁵

Finalmente un amplio estudio de 338 trasplantes de riñón, en tratamiento con ciclosporina o tacrólimus y después de ajustar por edad, sexo, número de trasplantes recibidos, tipo de donante, terapia de inducción, la presencia de anticuerpos del panel reactivo, número de mismatch HLA, genotipo del CYP3A5 y los niveles valle de tacrólimus, concluye que la presencia de lo SNP UGT1A9 - 275T> A y / o -2152C> T se asocia a una menor area bajo la curva de MPA que los no portadores, y esto a su vez a un mayor riesgo que los no portadores de tener rechazo agudo dentro del primer año (OR 13.3, IC 95%: 1.096

a 162.279, p = 0,042)¹⁰³ .

Podemos decir que nuestro estudio aporta el mayor número de pacientes estudiados y que **no hemos observado relación entre el polimorfismo y el rechazo agudo del injerto.**

8.1.4 Presencia del SNP y supervivencia del injerto.

Respecto a la evolución clínica tanto del injerto como de los pacientes que presentaban los polimorfismos, no se objetivaron diferencias en la

supervivencia del injerto al año, a los cinco y a los diez años, cuando se estratificaron los pacientes por los distintos polimorfismos. No hay ningún estudio que haya valorado la supervivencia a tan largo plazo como el nuestro, únicamente se describe un estudio de supervivencia a cinco años y la relación con los polimorfismos genéticos UGT1A9 T-275A y/o C-2152T sin encontrar una asociación entre ambas.⁵¹

8.1.5 Polimorfismos del gen UGT 1 A9 y efectos adversos gastrointestinales.

Antes de entrar en este apartado debemos decir que nos resultó complicado hacer una comparativa de nuestros resultados con otros estudios que también han evaluado la asociación entre polimorfismos de UGT y efectos adversos del MPA., el principal motivo es que algunos de estos estudios son retrospectivos, y las definiciones y la forma de evaluar los efectos adversos son heterogéneos y mal definidos. Como ya detallamos en Material y Métodos nuestros pacientes eran sometidos a unos test, donde se describían rigurosamente los síntomas de cada uno de los efectos adversos gastrointestinales. Estos test tenían el valor añadido de que habían sido validados en la población trasplantada renal²⁷, y por lo tanto se ha convertido en la herramienta de referencia para evaluar la tolerancia gastrointestinal en estos pacientes.

Respecto a dichos test de intolerancia gastrointestinal y calidad de vida, no hallamos diferencias estadísticamente significativas entre la

presencia o no del polimorfismo y el grado de sintomatología intestinal.

Datos coincidentes con los hallados por Michelon et al., que examinó la relación entre los SNP UGT2B7 y UGT1A9 y los efectos adversos del MPA en 218 trasplantados de riñón un año después del trasplante, prácticamente todos con tratamiento con tacrólimus con o sin esteroides, y no encontró asociación entre UGT1A9 -275T> A, UGT1A9 98T> C, y UGT2B7 802C> T y los eventos adversos digestivos ¹¹⁵

En un primer estudio piloto en nuestro centro, se estudiaron a 133 trasplantados renales en tratamiento tacrólimus (el estudio tenía como objetivo detectar la posible asociación del SNP UGT1A9 con la farmacocinética del MPA y la sintomatología digestiva secundaria a MPA); se observó que los pacientes portadores de la mutación UGT1A9 -275T>A/-2152C>T, presentaban más hospitalizaciones por efectos adversos gastrointestinales ¹¹⁶

Otro estudio realizado por Woillard en un grupo de 256 trasplantados renales, no encontró asociación del SNP UGT1A9 con la diarrea. ¹¹⁷

Kuypers, en otro estudio realizado con 95 trasplantes de riñón, en tratamiento con tacrólimus y esteroides, observó que la incidencia de la diarrea en los portadores de UGT1A9 -275T> A / -2152C> T era menor que en los no portadores, aunque no alcanzó significación estadística. ¹⁰¹

La razón de estos resultados contradictorios en estos estudios no es clara, las múltiples interacciones y el bajo número de pacientes portadores de la mutación, pueden jugar un papel para justificar dicha inconsistencia.

Nosotros no encontramos ninguna asociación entre los portadores de SNP de UGT 1A9 y una mayor incidencia de intolerancia gastrointestinal, sin embargo si analizamos los resultados separadamente según el tipo de inmunosupresor, en **los pacientes convertidos por intolerancia gastrointestinal de micofenolato mofetil a micofenolato sódico, objetivamos una mayor puntuación en la escala GIQLI tanto en los que no presentaban el polimorfismo como en los que lo presentaban**, es decir los pacientes cambiados de MMF a EcMPS por intolerancia digestiva presentan una mejoría de su calidad de vida , ya sean o no portadores de la mutación.

Una posible explicación sería que la envoltura entérica del EC-MPS favorece la liberación de MPA retardada hasta el intestino delgado, haciendo que la concentración del producto a nivel intestinal vaya aumentando progresivamente y el daño a nivel del enterocito sea menor, con la consiguiente reducción de la sintomatología adversa gastrointestinal.

8.2 Polimorfismos de UGT 1 A9 y farmacocinética del MPA.

Basándonos en que las mutaciones T-275 y C-2125T de la región promotora del gen UGT1A9 producen una mayor tasa de glucuronización in vitro ⁴¹⁻⁴³, en parte debido a la interrupción de la recirculación enterohepática del fármaco que se

traduce en una menor exposición al MPA (con el consiguiente descenso del área bajo la curva) en trasplantados renales en tratamiento con MMF, hemos querido investigar si la presencia del polimorfismo de la UGT, se asocia con variaciones en la farmacocinética de micofenolato mofetil y micofenolato sódico en trasplantes renales.

Antes de analizar las posibles asociaciones encontradas entre farmacocinética de MPA y farmacogenómica, hay que destacar la similitud en lo que a distribución de concentración de MPA encontramos en nuestras curvas de doce horas con lo publicado por otros. Así, observamos un rápido aumento en la concentración plasmática dentro de la primera media hora en el caso de emplear MMF y segunda hora en el caso del EC-MPS, y posteriormente un pequeño segundo pico entre la cuarta y la duodécima hora tras la administración del fármaco, estos datos son coincidentes con los resultados reportados por, Bullingham y Brunet.^{118, 119} El segundo pico de la MPA en plasma, es probablemente debido a la circulación enterohepática del metabolito del MPA (MPAG).

Las dosis medias de EC-MPS que administramos para la realización de la curva fueron de 441 ± 23 mg (rango 180-720 mg). Los valores medios de la concentración predosis fueron de 4.28 ± 0.55 µg/ml, C_{max} 24.76 ± 1.69 µg/ml, T_{max} de 2.37 ± 0.22 horas y la media del AUC total (0-12h) de 59.98 ± 3.39 µg.h/ml. Comparando este valor a los datos de Shaw et al. podemos

observar que nuestros resultados son superiores a los observados en ese estudio que reveló un AUC de MPA en los pacientes afroamericanos de $36,2 \pm 10,9 \mu\text{g.h} / \text{ml}$ y el AUC de los pacientes blancos fue de $46,8 \pm 17,6 \mu\text{g.h} / \text{ml}$ ($p = 0,948$). También observamos que con las mismas dosis, nuestras AUC de MPA eran superiores al AUC obtenida por Brunet et al.: $49,8 \pm 24,8$ ($p = 0,503$).

Debemos destacar las diferentes técnicas utilizadas para la medición de MPA en dichos trabajos, ya que todos ellos utilizaron la determinación por cromatografía (HPLC) y **nosotros utilizamos la técnica EMIT**, que sobreestima los niveles de MPA en comparación con HPLC, ya que el anticuerpo usado en el inmunoensayo reacciona de forma cruzada con el metabolito de MPA farmacológicamente activo; también se podría justificar por las diferencias de población, el efecto de la interacción con medicamentos concomitantes (tipo y dosis) y/o tiempo pasado desde el trasplante.

En probable relación con la diferente técnica de medición, y a pesar de que se ha establecido una correlación significativa del AUC-MPA $> 60 \mu\text{gxh/mL}$ y la aparición de efectos adversos (gastrointestinales, leucopenia, anemia y trombocitopenia) en comparación con los pacientes más estables que tienen valores de AUC con valor promedio de $39 \mu\text{gxh/mL}$ ¹²⁰. Nosotros no hemos encontrado asociación entre el AUC >60 y la presencia de anemia, leucopenia o plaquetopenia.

Nuestros resultados farmacocinéticos de MPA dependiendo de la presencia de los polimorfismos fueron que **los pacientes con el SNP UGT 1 A9 y tratados con MMF presentaban una menor AUC_{0-12h}.**

Hay que destacar que parte de los escasos **estudios realizados al respecto coinciden en que existe una asociación entre la presencia de SNP de UGT1A9 y el AUC_{0-12h} de MPA por debajo del rango terapéutico sugerido previamente** (<30mg/L.h). Un ejemplo de ello sería el estudio a largo plazo de Kuypers, llevado a cabo durante cinco años, con la participación de 100 receptores de trasplante renal de raza blanca, en los que encuentra una clara relación entre la presencia del SNP UGT 1A9 y un AUC₀₋₁₂ de MPA del 27mg/L.h, es decir por debajo de los resultados obtenidos de media de AUC de MPA que eran 47mg/L.h en ausencia de SNP.⁶⁰

Otros estudios han encontrado asociaciones entre estos SNPs y los parámetros farmacocinético de MPA. Sin embargo, esta asociación puede variar en función del tipo de inmunosupresor acompañante, como es el ejemplo de la ciclosporina y el tacrólimus o sirolimus en combinación con MPA, destacando el mayor estudio hasta la fecha, que se llevó a cabo en 338 pacientes, en su mayoría de raza blanca, 176 de ellos en tratamiento con tacrólimus y 163 con ciclosporina. Los portadores del SNP UGT1A9 que estaban recibiendo tacrólimus presentaban un AUC_{0-12h} de MPA menor (día 3) que los no portadores. Sin embargo, este

efecto no se observó en los que recibían ciclosporina. Una explicación sería que la ciclosporina interactúa con MPA, inhibiendo el MRP2, que es responsable de la excreción biliar de MPAG y en última instancia podría afectar a la concentración de MPA y compensar cualquier aumento de la actividad por el SNP UGT1A9. Otra consideración en este estudio es que los pacientes no estaban recibiendo esteroides, los cuales han demostrado su influencia en la concentración plasmática de MPA mediante la reducción de AUC del MPA¹⁰³

Otras variables como la función renal, la unión del MPA a proteínas, y el tiempo post-trasplante podrían contribuir a estos resultados del estudio.

Sin embargo, no todos los estudios han encontrado una asociación entre estos SNPs de UGT y la variabilidad farmacocinética del MPA. En un estudio llevado a cabo con 40 pacientes con trasplante renal de raza blanca en

tratamiento con MMF, ciclosporina sin esteroides, que fueron evaluados a los 6 meses después del trasplante, no se observó asociación con el SNP UGT1A9 y los parámetros farmacocinéticos, este estudio no tenía la potencia adecuada para mostrar si existe asociación significativa.⁹⁷

El problema de los estudios realizados hasta ahora radica en que no incorporan un número de pacientes suficientemente amplio para que el análisis estadístico sea adecuado, dada la baja frecuencia del polimorfismo en la población.

Finalmente, un hallazgo muy interesante de nuestro estudio que no ha sido reportado previamente, es que **los pacientes portadores del SNP cuando recibían tratamiento con EC-MPS presentaban AUC similares a los no portadores y toleraban desde el punto de vista gastrointestinal, dosis similares. Este hecho no se producía cuando los portadores del polimorfismo eran tratados con MMF.** Una posible explicación a este importante hallazgo es que la liberación gastrointestinal más lenta que comporta la molécula de EC-MPS ayude a una mejor y más progresiva absorción del fármaco y redunde por tanto en mejor AUC y mayor dosis tolerada. Esto fue posteriormente comprobado cuando hicimos doble estudio farmacocinético a 17 sujetos portadores del polimorfismo (primero recibiendo MMF y posteriormente recibiendo EC-MPS). En ese análisis encontramos que con MMF presentaban una menor AUC que con EC-MPS, siendo las diferencias estadísticamente significativas pese a la escasa muestra (55.4 ± 14.0 vs 65.9 ± 22.7 , $p=0.015$). En los sujetos no portadores del polimorfismo el tratamiento con EC-MPS no comportaba ninguna mejoría en el AUC.

Por lo tanto, creemos aconsejable el tratamiento con EC-MPS en los pacientes con el SNP ya que el aumento de la glucuronización del MPA consecuencia de la mutación (y de una menor AUC de MPA), se compensaría con la liberación más lenta a nivel intestinal del EC-MPS con respecto al MMF.

8.3 Fórmulas de curva abreviadas para la monitorización de EC-MPS.

La monitorización de MPA para alcanzar la eficacia óptima inmunosupresora es sumamente importante^{30, 121, 122}. Obviamente, no es necesario realizar un estudio farmacocinético al paciente cada vez que viene a la consulta, pero teniendo en cuenta que en la actualidad se están implantando estrategias de minimización de inhibidores de calcineurina (por ejemplo en pacientes con riesgo de nefrotoxicidad o con tumores o infecciones víricas), el tener una exposición adecuada a MPA es muy importante. Por ello, un estudio farmacocinético puntual en estos pacientes, debería realizarse, quizás ante cambios de inmunosupresión; pero la realización de AUC_{0-12h} requiere la extracción de muestras sanguíneas durante un tiempo prolongado lo que hace que en la práctica clínica, por requerir el personal experto, recursos de laboratorio, cantidades considerables de sangre, y una permanencia mínima de 12 horas en un centro médico, no sea fácilmente realizable. Por otra parte, no alcanzar un adecuado AUC_{0-12h} puede tener implicaciones importantes para la eficacia terapéutica¹²³; por consiguiente, una alternativa utilizada con este tipo de medicamentos es el uso de fórmulas abreviadas para el cálculo del AUC de MPA. Los valores predosis o también llamados valores valle de MPA tienen una mala correlación con el AUC real como hemos comentado en la introducción de esta tesis. El muestreo limitado durante dos y tres horas después de la administración del fármaco puede conducir a una valoración más idónea y ya han sido publicados diferentes fórmulas abreviadas en el caso de MMF⁶¹⁻⁶⁵; sin

embargo, dichas fórmulas no pueden ser usados para EC-MMS, porque la exposición de MPA a nivel intestinal con esta formulación es más variable que la exposición de MMF¹²⁴.

Antes del desarrollo de este proyecto de investigación existían tres estudios de fórmulas abreviadas con EC-MPS, pero con importantes sesgos en su diseño, de manera que incluso los propios autores concluían que sus LSS no eran aconsejables en los pacientes tratados con EC-MPS. El estudio de De Winter et al.⁷¹ utilizó datos farmacocinéticos procedentes de pacientes de diferentes ensayos clínicos con distintos esquemas de extracción de muestras de forma que los datos de la cuarta, quinta, sexta y octava, no estaban disponibles para todos los pacientes ya que el último punto de tiempo de muestreo era la tercera hora, por otra parte la mayor parte de pacientes estaban tratados con ciclosporina y no con tacrólimus.

En los otros dos estudios realizados, el inmunosupresor asociado a ECMPS era ciclosporina. Actualmente este inmunosupresor apenas se utiliza ya que la mayor parte de pacientes reciben tacrólimus. El MPA tiene un diferente perfil farmacocinético según el anticalcineurínico acompañante sea tacrólimus o ciclosporina ¹²⁵. Por lo tanto, las fórmulas desarrolladas en los estudios realizados con ciclosporina no pueden ser aplicadas si el paciente recibe tratamiento con tacrólimus.

No obstante hay que mencionar brevemente cada uno de ellos, el primero fue desarrollado por el realizado por Sommerer et al.⁷² donde utilizaron 5 puntos de tiempo para la elaboración de fórmulas dentro de las cuatro primeras horas con resultados satisfactorios al respecto. El segundo es el de Capone et al.⁷⁰, en 26 trasplantados renales aportando ecuaciones con 3 puntos de tiempo de hasta 2 y 8 horas.

Nuestro estudio es uno de los primeros realizados en Europa, sobre el desarrollo de una fórmula abreviada para la predicción del AUC_{0-12h} de MPA en receptores adultos de riñón tratados con EC-MMS y tacrólimus, con función renal estable y que utiliza numerosos puntos de extracción durante doce horas a fin de poder encontrar cuales son los que pueden correlacionarse mejor con el AUC real.

Nuestros datos corroboran que el valor estimado del AUC_{0-12h} basado en la concentración de niveles valle de MPA es poco válido y por lo tanto realizar ajustes de dosis basándonos en la concentración valle no es lo más adecuado. Como se puede observar en la figura 15, el coeficiente de correlación (r^2) y la precisión eran pobres. Este hallazgo es compatible con datos previamente publicados con MMF^{40, 50, 67, 68}.

Por lo tanto, otras concentraciones aparte de C_0 eran necesarias. De las correlaciones que obtuvimos entre los diferentes puntos analizados y el AUC finalmente escogimos aquellas que tenían mejor coeficiente de correlación y

que podían ser aplicadas en un horario fácil en la práctica clínica habitual. Las fórmulas elegidas para tres y cuatro puntos, como puede verse en la sección resultados, no presentaban un sesgo de error significativo y tenían un coeficiente de correlación (r^2) ajustado mayor de 0.84. Estos coeficientes de correlación eran comparables a los de las fórmulas abreviadas para la estimación de AUC_{0-12h} en pacientes que reciben MMF^{67-69, 71, 126, 127}. Además, cuando aplicamos estas fórmulas en el grupo de validación, los coeficientes de correlación disminuyeron poco (r^2 ajustado > 0.7) (Tabla 13,14 y 15) y el sesgo era bajo. Más del 75 % de pacientes en el grupo de validación estaban dentro del 75%-125% del AUC_{0-12h} real. El método Bland-Altman no mostró una subestimación o sobrestimación en el rango superior o inferior del AUC medido.

Nuestras fórmulas son superiores a las de De Winter et al.⁷¹ para la valoración de MPA AUC_{0-12h} después de la administración de EC-MPS, usando sólo muestras obtenidas dentro de una postdosis de tres horas. La explicación para el mejor funcionamiento predictivo probablemente se basa en la adición de un punto posterior (postdosis de cuatro horas), que podría minimizar la absorción altamente variable de la droga (ver figura 14). Por consiguiente, en la mayor parte de los pacientes, la concentración máxima puede ser determinada usando nuestras fórmulas.

De hecho, De Winter et al. refieren que sus fórmulas abreviadas no son lo suficientemente adecuadas como para ser usadas en la práctica clínica, porque

su precisión era baja y la curva de Bland-Altman revelaron la existencia de error sistemático, existiendo una sobrestimación en el caso de $AUC_{0-12h} < 30 \text{ mg}\cdot\text{h/L}$ y una subestimación si el AUC_{0-12h} era $> 60 \text{ mg}\cdot\text{h/L}$. Además, los coeficientes de correlación en la tercera hora, fueron inferiores a los obtenidos para el mismo tiempo en las fórmulas abreviadas desarrolladas para la valoración de AUC_{0-12h} con MMF ^{61, 63-65}. Por otra parte, cuando estos autores las validan, los coeficientes de correlación (r^2) disminuyeron por debajo de 0.4. Una de las explicaciones posibles ofrecidas por los autores para esta baja predicción es la gran variabilidad en la absorción de la droga. Por ello concluyen que son necesarios puntos de tiempo posteriores para la mejora.

Cuando nosotros procedemos a validar las fórmulas obtenidas por DeWinter et al.⁷¹ en nuestros pacientes utilizando los tres puntos de tiempo sugeridos por ellos (C0.5h, C1h y C3h). La correlación entre el AUC_{0-12h} calculado y el AUC_{0-12h} real fue pobre ($r^2=0.388$), el error medio de validación alto $-7.963 \text{ IC } 95 \% - 13.574 \text{ a } -2.353$) y estadísticamente diferente de cero. Por lo tanto, no recomendamos su empleo.

También aplicamos las fórmulas desarrolladas por Capone y Sommerer en trasplantados renales en tratamiento con ciclosporina, y como describimos en el apartado de resultados, estas fórmulas no se ajustan a los pacientes tratados con tacrólimus.

Un alto porcentaje de nuestros pacientes tenía un $AUC_{0-12h} > 60 \text{ mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}$ real, sin embargo no encontramos relación entre estos niveles plasmáticos con la toxicidad del MPA. Este dato podría ser explicado ya que el clásico rango de 30-60 $\text{mg}\cdot\text{h}/\text{mL}$ estaba basado en el empleo de MMF en el período inmediato de postrasplante con ciclosporina¹²⁸ mientras que nuestros datos son realizados en pacientes con función renal estable y en tratamiento con tacrólimus (la exposición a MPA es más alta en pacientes tratados con tacrólimus que en aquellos tratados con ciclosporina)¹²⁵, y también por cambios en la técnica para determinarlos ya que los resultados producidos por la EMIT fueron superiores a aquellos de técnicas basadas en la cromatografía, ya que el anticuerpo usado en el inmunoaseguramiento reacciona de forma cruzada con el metabolito de MPA farmacológicamente activo^{71, 123}

Nuestros resultados muestran **que la estimación del AUC_{0-12h} del MPA con las combinaciones de tiempo en la primera, segunda y cuarta hora (C1h, C2h, y C4h) o con la combinación de la primera hora, hora y media, segunda y cuarta hora (C1h-C1.5h-C2h-C4h) nos da la una valoración válida y fiable** de este parámetro en trasplantados renales tratados con EC-MPS.

Aunque nuestro estudio no es un ensayo clínico, tiene pocas limitaciones. Respecto al sesgo de selección, se consideraron a todos los pacientes consecutivos, en tratamiento con micofenolato sódico y micofenolato mofetil, y

seguidos en la consulta durante el período de estudio. Por lo tanto, la población del estudio era demográficamente similar a nuestra población de trasplante (tabla 13), con un porcentaje de pérdidas en el estudio equiparable al presente en el resto de nuestra población trasplantada. Además, no se observaron diferencias entre el grupo de prueba modelo y el grupo de validación.

Creemos que es este un estudio retrospectivo de buena calidad siendo el sesgo de mala clasificación poco probable, dada la alta validez de los métodos de análisis genómico y la protocolización de la recogida de datos en la consulta de trasplante renal con baja variabilidad entre observadores.

Por último, no podemos descartar el sesgos de confusión, al ser un estudio observacional. Sin embargo, se ajustaron modelos multivariantes para aislar el efecto del polimorfismo.

Cabría destacar que **nuestro estudio ha sido tomado como referencia de otros posteriores**, tanto en su diseño como análisis estadístico, **siendo validados nuestros puntos de extracción de las curvas abreviadas** proporcionando una exactitud pronóstica del AUC del MPA. Son ejemplos de estos estudios posteriores al nuestro, donde somos mencionados y evaluados satisfactoriamente, el realizado por Pawinski et al., cuyas ecuaciones utilizan al igual que nosotros 3 y 4 muestras para la evaluación de las AUC del MPA en los

receptores renales que reciben terapia inmunosupresora de mantenimiento con EC-MPS y tacrólimus.

También somos citados en el estudio de Yao realizado en 38 pacientes trasplantados de riñón de raza china, donde se objetiva un retraso en la absorción de la MPA . Al igual que las nuestras, sus fórmulas se basan en 3 y 4 puntos de tiempo para estimar la MPA AUC_{0-12h}

Por último hay que mencionar que nuestras curvas abreviadas son utilizadas en un estudio para monitorizar los niveles de MPA en una población de 32 pacientes afectada de Nefritis Lupica y en tratamiento con EC-MPS¹²⁹⁻¹³¹.

CONCLUSIONES



9 CONCLUSIONES

1. Los pacientes trasplantados de riñón en tratamiento con micofenolato mofetil en combinación con tacrólimus y portadores del polimorfismo T-275 A y C-2152T del gen UGT1A9 presentan una exposición al MPA menor que aquellos receptores que no presentan el polimorfismo.
2. En presencia de este polimorfismo la farmacocinética del MPA es diferente según se trate al paciente con MMF o EC-MPS, obteniendo mayores áreas bajo la curva de MPA cuando se administra EC-MPS. Debido a la liberación más lenta del EC-MPS que compensaría un mayor metabolismo del fármaco por el polimorfismo.
3. Aconsejamos el tratamiento con EC-MPS en los pacientes portadores del polimorfismo UGT1A9, ya que hemos objetivado una mejoría en la calidad de vida del paciente.

4. No hemos detectado asociación entre el estado de portador del SNP con la presencia de una mayor sintomatología intestinal, ni con mayor incidencia de rechazo agudo del injerto ni con la supervivencia del injerto.
5. En nuestra muestra hemos observado asociación estadística de la presencia del polimorfismo analizado, con la presencia de tumores de origen digestivo, este resultado requeriría posteriores estudios para su demostración.
6. Hemos mostrado la relación entre el área bajo la curva en doce horas con la realización de dos tipos de fórmulas abreviadas. La primera se realizará con la determinación en la primera, segunda y cuarta hora desde la toma de la medicación. La segunda fórmula se realizará en la primera hora, primera hora y 30 minutos, segunda y cuarta hora; así se aporta la valoración más válida y fiable.

BIBLIOGRAFÍA



10 BIBLIOGRAFÍA

1. Jeong H, Kaplan B. Therapeutic monitoring of mycophenolate mofetil. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; **2**: 184-191.
2. Allison AC, Eugui EM. Immunosuppressive and other effects of mycophenolic acid and an ester prodrug, mycophenolate mofetil. *Immunol Rev* 1993; **136**: 5-28.
3. Eugui EM, Mirkovich A, Allison AC. Lymphocyte-selective antiproliferative and immunosuppressive effects of mycophenolic acid in mice. *Scand J Immunol* 1991; **33**: 175-183.
4. Natsumeda Y, Carr SF. Human type I and II IMP dehydrogenases as drug targets. *Ann N Y Acad Sci* 1993; **696**: 88-93.
5. Sintchak MD, Fleming MA, Futer O, *et al.* Structure and mechanism of inosine monophosphate dehydrogenase in complex with the immunosuppressant mycophenolic acid. *Cell* 1996; **85**: 921-930.
6. Jonsson CA, Carlsten H. Mycophenolic acid inhibits inosine 5'-monophosphate dehydrogenase and suppresses immunoglobulin and cytokine production of B cells. *Int Immunopharmacol* 2003; **3**: 31-37.

7. Budde K, Glander P, Diekmann F, *et al.*. Review of the immunosuppressant enteric-coated mycophenolate sodium. *Expert Opin Pharmacother* 2004; **5**: 1333-1345.
8. Bardsley-Elliot A, Noble S, Foster RH. Mycophenolate mofetil: a review of its use in the management of solid organ transplantation. *BioDrugs* 1999; **12**: 363-410.
9. Browne BJ. The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Trial. *Transplantation* 1996; **62**: 1697.
10. Group EMMCS. Placebo-controlled study of mycophenolate mofetil combined with cyclosporin and corticosteroids for prevention of acute rejection. European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. *Lancet* 1995; **345**: 1321-1325.
11. Sollinger HW. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U.S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. *Transplantation* 1995; **60**: 225-232.

12. Srinivas TR, Schold JD, Guerra G, *et al.* Mycophenolate mofetil/sirolimus compared to other common immunosuppressive regimens in kidney transplantation. *Am J Transplant* 2007; **7**: 586-594.
13. Gonzalez Molina M, Seron D, Garcia del Moral R, *et al.* Mycophenolate mofetil reduces deterioration of renal function in patients with chronic allograft nephropathy. A follow-up study by the Spanish Cooperative Study Group of Chronic Allograft Nephropathy. *Transplantation* 2004; **77**: 215-220.
14. Gentil MA, Osuna A, Capdevila L, *et al.* Safety and efficacy of delayed introduction of low-dose tacrólimus in elderly recipients of cadaveric renal transplants from donors over 55 years of age. *Transplant Proc* 2003; **35**: 1706-1708.
15. Gentil MA, Osuna A, Capdevilla L, *et al.* [Daclizumab in combination with mycophenolate mofetil and a late introduction of Tacrólimus at low doses, as a therapeutic approach in the elderly renal transplant donor-recipients pairs in kidney transplant]. *Nefrologia* 2008; **28**: 287-292.
16. Abramowicz D, Manas D, Lao M, *et al.* Cyclosporine withdrawal from a mycophenolate mofetil-containing immunosuppressive regimen in stable

kidney transplant recipients: a randomized, controlled study.

Transplantation 2002; **74**: 1725-1734.

17. Grinyo JM, Gil-Vernet S, Cruzado JM, *et al.*. Calcineurin inhibitor-free immunosuppression based on antithymocyte globulin and mycophenolate mofetil in cadaveric kidney transplantation: results after 5 years. *Transpl Int* 2003; **16**: 820-827.
18. Grinyo JM, Cruzado JM. Steroid or calcineurin inhibitor-sparing immunosuppressive protocols. *Contrib Nephrol* 2005; **146**: 30-42.
19. Matas AJ, Ramcharan T, Paraskevas S, *et al.*. Rapid discontinuation of steroids in living donor kidney transplantation: a pilot study. *Am J Transplant* 2001; **1**: 278-283.
20. Matas AJ, Kandaswamy R, Humar A, *et al.*. Long-term immunosuppression, without maintenance prednisone, after kidney transplantation. *Ann Surg* 2004; **240**: 510-516; discussion 516-517.
21. Vincenti F, Schena FP, Paraskevas S, *et al.*. A randomized, multicenter study of steroid avoidance, early steroid withdrawal or standard steroid

- therapy in kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2008; **8**: 307-316.
22. Gallon LG, Winoto J, Leventhal JR, *et al.*. Effect of prednisone versus no prednisone as part of maintenance immunosuppression on long-term renal transplant function. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; **1**: 1029-1038.
23. Pascual J, Quereda C, Zamora J, *et al.*. Updated metaanalysis of steroid withdrawal in renal transplant patients on calcineurin inhibitor and mycophenolate mofetil. *Transplant Proc* 2005; **37**: 3746-3748.
24. Ekberg H, Bernasconi C, Tedesco-Silva H, *et al.*. Calcineurin inhibitor minimization in the Symphony study: observational results 3 years after transplantation. *Am J Transplant* 2009; **9**: 1876-1885.
25. Hardinger KL, Brennan DC, Lowell J, *et al.*. Long-term outcome of gastrointestinal complications in renal transplant patients treated with mycophenolate mofetil. *Transpl Int* 2004; **17**: 609-616.
26. Knoll GA, MacDonald I, Khan A, *et al.*. Mycophenolate mofetil dose reduction and the risk of acute rejection after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2003; **14**: 2381-2386.

27. Kleinman L, Kilburg A, Machnicki G, *et al.*. Using GI-specific patient outcome measures in renal transplant patients: validation of the GSRS and GIQLI. *Qual Life Res* 2006; **15**: 1223-1232.
28. Ekberg H, Kyllonen L, Madsen S, *et al.*. Increased prevalence of gastrointestinal symptoms associated with impaired quality of life in renal transplant recipients. *Transplantation* 2007; **83**: 282-289.
29. Ponticelli C, Colombo D, Novara M, *et al.*. Gastrointestinal symptoms impair quality of life in Italian renal transplant recipients but are under-recognized by physicians. *Transpl Int* 2010; **23**: 1126-1134.
30. Sanchez-Fructuoso AI, de la Higuera MA, Giorgi M, *et al.*. Inadequate mycophenolic acid exposure and acute rejection in kidney transplantation. *Transplant Proc* 2009; **41**: 2104-2105.
31. Bunnapradist S, Lentine KL, Burroughs TE, *et al.*. Mycophenolate mofetil dose reductions and discontinuations after gastrointestinal complications are associated with renal transplant graft failure. *Transplantation* 2006; **82**: 102-107.

32. Calvo N, Sanchez-Fructuoso AI, Conesa J, *et al.* Renal transplant patients with gastrointestinal intolerance to mycophenolate mofetil: conversion to enteric-coated mycophenolate sodium. *Transplant Proc* 2006; **38**: 2396-2397.
33. Budde K, Curtis J, Knoll G, *et al.* Enteric-coated mycophenolate sodium can be safely administered in maintenance renal transplant patients: results of a 1-year study. *Am J Transplant* 2004; **4**: 237-243.
34. Salvadori M, Holzer H, de Mattos A, *et al.* Enteric-coated mycophenolate sodium is therapeutically equivalent to mycophenolate mofetil in de novo renal transplant patients. *Am J Transplant* 2004; **4**: 231-236.
35. Chan L, Mulgaonkar S, Walker R, *et al.* Patient-reported gastrointestinal symptom burden and health-related quality of life following conversion from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium. *Transplantation* 2006; **81**: 1290-1297.
36. Ortega F, Sanchez-Fructuoso A, Cruzado JM, *et al.* Gastrointestinal quality of life improvement of renal transplant recipients converted from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium drugs or

agents: mycophenolate mofetil and enteric-coated mycophenolate sodium. *Transplantation* 2011; **92**: 426-432.

37. Sanchez-Fructuoso A, Ruiz JC, Rengel M, *et al.*. Use of mycophenolate sodium in stable renal transplant recipients in Spain: preliminary results of the MIDATA study. *Transplant Proc* 2009; **41**: 2309-2312.
38. Bolin P, Tanriover B, Zibari GB, *et al.*. Improvement in 3-month patient-reported gastrointestinal symptoms after conversion from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium in renal transplant patients. *Transplantation* 2007; **84**: 1443-1451.
39. Shaw LM, Holt DW, Oellerich M, *et al.*. Current issues in therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: report of a roundtable discussion. *Ther Drug Monit* 2001; **23**: 305-315.
40. Wieland E, Shipkova M, Schellhaas U, *et al.*. Induction of cytokine release by the acyl glucuronide of mycophenolic acid: a link to side effects? *Clin Biochem* 2000; **33**: 107-113.

41. Basu NK, Kole L, Kubota S, *et al.*. Human UDP-glucuronosyltransferases show atypical metabolism of mycophenolic acid and inhibition by curcumin. *Drug Metab Dispos* 2004; **32**: 768-773.
42. Picard N, Ratanasavanh D, Premaud A, *et al.*. Identification of the UDP-glucuronosyltransferase isoforms involved in mycophenolic acid phase II metabolism. *Drug Metab Dispos* 2005; **33**: 139-146.
43. Girard H, Court MH, Bernard O, *et al.*. Identification of common polymorphisms in the promoter of the UGT1A9 gene: evidence that UGT1A9 protein and activity levels are strongly genetically controlled in the liver. *Pharmacogenetics* 2004; **14**: 501-515.
44. Kobayashi M, Saitoh H, Kobayashi M, *et al.*. Cyclosporin A, but not tacrólimus, inhibits the biliary excretion of mycophenolic acid glucuronide possibly mediated by multidrug resistance-associated protein 2 in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; **309**: 1029-1035.
45. Schaub TP, Kartenbeck J, König J, *et al.*. Expression of the MRP2 gene-encoded conjugate export pump in human kidney proximal tubules and in renal cell carcinoma. *J Am Soc Nephrol* 1999; **10**: 1159-1169.

46. Sanchez Fructuoso AI. Revisión de un nuevo inmunosupresor: Micofenolato sódico con cubierta enterica (Myfortic.®). *Nefrología* 2005; **25**: 234-244.
47. Zucker K, Rosen A, Tsaroucha A, *et al.*. Unexpected augmentation of mycophenolic acid pharmacokinetics in renal transplant patients receiving tacrólimus and mycophenolate mofetil in combination therapy, and analogous in vitro findings. *Transpl Immunol* 1997; **5**: 225-232.
48. Zucker K, Tsaroucha A, Olson L, *et al.*. Evidence that tacrólimus augments the bioavailability of mycophenolate mofetil through the inhibition of mycophenolic acid glucuronidation. *Ther Drug Monit* 1999; **21**: 35-43.
49. Smak Gregoor PJ, van Gelder T, Hesse CJ, *et al.*. Mycophenolic acid plasma concentrations in kidney allograft recipients with or without cyclosporin: a cross-sectional study. *Nephrol Dial Transplant* 1999; **14**: 706-708.
50. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2007; **46**: 13-58.

51. Kuypers DR, Vanrenterghem Y, Squifflet JP, *et al.* Twelve-month evaluation of the clinical pharmacokinetics of total and free mycophenolic acid and its glucuronide metabolites in renal allograft recipients on low dose tacrólimus in combination with mycophenolate mofetil. *Ther Drug Monit* 2003; **25**: 609-622.
52. Cox VC, Ensom MH. Mycophenolate mofetil for solid organ transplantation: does the evidence support the need for clinical pharmacokinetic monitoring? *Ther Drug Monit* 2003; **25**: 137-157.
53. Shaw LM, Nicholls A, Hale M, *et al.* Therapeutic monitoring of mycophenolic acid. A consensus panel report. *Clin Biochem* 1998; **31**: 317-322.
54. Shaw LM, Sollinger HW, Halloran P, *et al.* Mycophenolate mofetil: a report of the consensus panel. *Ther Drug Monit* 1995; **17**: 690-699.
55. van Gelder T, Hilbrands LB, Vanrenterghem Y, *et al.* A randomized double-blind, multicenter plasma concentration controlled study of the safety and efficacy of oral mycophenolate mofetil for the prevention of

acute rejection after kidney transplantation. *Transplantation* 1999; **68**: 261-266.

56. Oellerich M, Shipkova M, Schutz E, *et al.*. Pharmacokinetic and metabolic investigations of mycophenolic acid in pediatric patients after renal transplantation: implications for therapeutic drug monitoring. German Study Group on Mycophenolate Mofetil Therapy in Pediatric Renal Transplant Recipients. *Ther Drug Monit* 2000; **22**: 20-26.
57. Hale MD, Nicholls AJ, Bullingham RE, *et al.*. The pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship for mycophenolate mofetil in renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 1998; **64**: 672-683.
58. van Gelder T, Silva HT, de Fijter JW, *et al.*. Comparing mycophenolate mofetil regimens for de novo renal transplant recipients: the fixed-dose concentration-controlled trial. *Transplantation* 2008; **86**: 1043-1051.
59. Le Meur Y, Buchler M, Thierry A, *et al.*. Individualized mycophenolate mofetil dosing based on drug exposure significantly improves patient outcomes after renal transplantation. *Am J Transplant* 2007; **7**: 2496-2503.

60. Kuypers DR, de Jonge H, Naesens M, *et al.*. Current target ranges of mycophenolic acid exposure and drug-related adverse events: a 5-year, open-label, prospective, clinical follow-up study in renal allograft recipients. *Clin Ther* 2008; **30**: 673-683.
61. Hesselink DA, van Hest RM, Mathot RA, *et al.*. Cyclosporine interacts with mycophenolic acid by inhibiting the multidrug resistance-associated protein 2. *Am J Transplant* 2005; **5**: 987-994.
62. Shaw LM, Korecka M, Aradhye S, *et al.*. Mycophenolic acid area under the curve values in African American and Caucasian renal transplant patients are comparable. *J Clin Pharmacol* 2000; **40**: 624-633.
63. van Hest RM, van Gelder T, Vulto AG, *et al.*. Population pharmacokinetics of mycophenolic acid in renal transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2005; **44**: 1083-1096.
64. Le Guellec C, Bourgoin H, Buchler M, *et al.*. Population pharmacokinetics and Bayesian estimation of mycophenolic acid concentrations in stable renal transplant patients. *Clin Pharmacokinet* 2004; **43**: 253-266.

65. Weber LT, Shipkova M, Lamersdorf T, *et al.*. Pharmacokinetics of mycophenolic acid (MPA) and determinants of MPA free fraction in pediatric and adult renal transplant recipients. German Study group on Mycophenolate Mofetil Therapy in Pediatric Renal Transplant Recipients. *J Am Soc Nephrol* 1998; **9**: 1511-1520.
66. Filler G, Mai I. Limited sampling strategy for mycophenolic acid area under the curve. *Ther Drug Monit* 2000; **22**: 169-173.
67. Miura M, Satoh S, Niioka T, *et al.*. Early phase limited sampling strategy characterizing tacrólimus and mycophenolic acid pharmacokinetics adapted to the maintenance phase of renal transplant patients. *Ther Drug Monit* 2009; **31**: 467-474.
68. Pawinski T, Hale M, Korecka M, *et al.*. Limited sampling strategy for the estimation of mycophenolic acid area under the curve in adult renal transplant patients treated with concomitant tacrólimus. *Clin Chem* 2002; **48**: 1497-1504.
69. Teshima D, Maiguma T, Kaji H, *et al.*. Estimation of the area under the curve for mycophenolic acid in adult renal transplant patients with

concomitant tacrólimus using a limited sampling strategy. *J Clin Pharm Ther* 2008; **33**: 159-163.

70. Capone D, Tarantino G, Kadilli I, *et al.*. Evalutation of mycophenolic acid systemic exposure by limited sampling strategy in kidney transplant recipients receiving enteric-coated mycophenolate sodium (EC-MPS) and cyclosporine. *Nephrol Dial Transplant* 2011; **26**: 3019-3025.
71. de Winter BC, van Gelder T, Mathot RA, *et al.*. Limited sampling strategies drawn within 3 hours postdose poorly predict mycophenolic acid area-under-the-curve after enteric-coated mycophenolate sodium. *Ther Drug Monit* 2009; **31**: 585-591.
72. Sommerer C, Muller-Krebs S, Schaier M, *et al.*. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of enteric-coated mycophenolate sodium: limited sampling strategies and clinical outcome in renal transplant patients. *Br J Clin Pharmacol* 2010; **69**: 346-357.
73. Guillén-Navarro E. Genética Clínica y Dismorfología: Generalidades. *Rev Esp Pediatría* 2009; **65**: 12-14.

74. Cascorbi I, Gerloff T, John A, *et al.*. Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther* 2001; **69**: 169-174.
75. Roberts RL, Joyce PR, Mulder RT, *et al.*. A common P-glycoprotein polymorphism is associated with nortriptyline-induced postural hypotension in patients treated for major depression. *Pharmacogenomics J* 2002; **2**: 191-196.
76. Rodrigues AC, Rebecchi IM, Bertolami MC, *et al.*. High baseline serum total and LDL cholesterol levels are associated with MDR1 haplotypes in Brazilian hypercholesterolemic individuals of European descent. *Braz J Med Biol Res* 2005; **38**: 1389-1397.
77. Wielandt AM, Vollrath V, Chianale J. [Polymorphisms of the multiple drug resistance gene (MDR1) in Mapuche, Mestizo and Maori populations in Chile]. *Rev Med Chil* 2004; **132**: 1061-1068.
78. Ameyaw MM, Regateiro F, Li T, *et al.*. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics* 2001; **11**: 217-221.

79. Vicente J, Sinues B, Fanlo A, *et al.*. Polymorphism C3435T of the MDR1 gene in Central Americans and Spaniards. *Mol Biol Rep* 2008; **35**: 473-478.
80. Yi SY, Hong KS, Lim HS, *et al.*. A variant 2677A allele of the MDR1 gene affects fexofenadine disposition. *Clin Pharmacol Ther* 2004; **76**: 418-427.
81. Naesens M, Kuypers DR, Verbeke K, *et al.*. Multidrug resistance protein 2 genetic polymorphisms influence mycophenolic acid exposure in renal allograft recipients. *Transplantation* 2006; **82**: 1074-1084.
82. Wang J, Yang JW, Zeevi A, *et al.*. IMPDH1 gene polymorphisms and association with acute rejection in renal transplant patients. *Clin Pharmacol Ther* 2008; **83**: 711-717.
83. Sombogaard F, van Schaik RH, Mathot RA, *et al.*. Interpatient variability in IMPDH activity in MMF-treated renal transplant patients is correlated with IMPDH type II 3757T > C polymorphism. *Pharmacogenet Genomics* 2009; **19**: 626-634.
84. Alvarez Beltran M, Infante Pina D, Tormo Carnice R, *et al.*. [Optimising azathioprine treatment: determination of thiopurine methyltransferase

- activity and thiopurine metabolites]. *An Pediatr (Barc)* 2009; **70**: 126-131.
85. Snow JL, Gibson LE. The role of genetic variation in thiopurine methyltransferase activity and the efficacy and/or side effects of azathioprine therapy in dermatologic patients. *Arch Dermatol* 1995; **131**: 193-197.
86. Cavalli SA, Hirata MH, Hirata RD. Detection of MboII polymorphism at the 5' promoter region of CYP3A4. *Clin Chem* 2001; **47**: 348-351.
87. Drogemoller B, Plummer M, Korkie L, *et al.*. Characterization of the genetic variation present in CYP3A4 in three South African populations. *Front Genet* 2013; **4**: 17.
88. Lamba JK, Lin YS, Thummel K, *et al.*. Common allelic variants of cytochrome P4503A4 and their prevalence in different populations. *Pharmacogenetics* 2002; **12**: 121-132.
89. Turolo S, Tirelli AS, Ferraresso M, *et al.*. Frequencies and roles of CYP3A5, CYP3A4 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms in Italian

teenagers after kidney transplantation. *Pharmacol Rep* 2010; **62**: 1159-1169.

90. Tavira B, Coto E, Diaz-Corte C, *et al.*. Pharmacogenetics of tacrólimus after renal transplantation: analysis of polymorphisms in genes encoding 16 drug metabolizing enzymes. *Clin Chem Lab Med* 2011; **49**: 825-833.
91. Jacobson PA, Oetting WS, Brearley AM, *et al.*. Novel polymorphisms associated with tacrólimus trough concentrations: results from a multicenter kidney transplant consortium. *Transplantation* 2011; **91**: 300-308.
92. Gaedigk A, Bradford LD, Marcucci KA, *et al.*. Unique CYP2D6 activity distribution and genotype-phenotype discordance in black Americans. *Clin Pharmacol Ther* 2002; **72**: 76-89.
93. McLellan RA, Oscarson M, Seidegard J, *et al.*. Frequent occurrence of CYP2D6 gene duplication in Saudi Arabians. *Pharmacogenetics* 1997; **7**: 187-191.
94. Rosso Felipe C, de Sandes TV, Sampaio EL, *et al.*. Clinical impact of polymorphisms of transport proteins and enzymes involved in the

- metabolism of immunosuppressive drugs. *Transplant Proc* 2009; **41**: 1441-1455.
95. Miura M, Satoh S, Inoue K, *et al.*. Influence of SLCO1B1, 1B3, 2B1 and ABCC2 genetic polymorphisms on mycophenolic acid pharmacokinetics in Japanese renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol* 2007; **63**: 1161-1169.
96. Schwarz UI, Meyer zu Schwabedissen HE, Tirona RG, *et al.*. Identification of novel functional organic anion-transporting polypeptide 1B3 polymorphisms and assessment of substrate specificity. *Pharmacogenet Genomics* 2011; **21**: 103-114.
97. Baldelli S, Merlini S, Perico N, *et al.*. C-440T/T-331C polymorphisms in the UGT1A9 gene affect the pharmacokinetics of mycophenolic acid in kidney transplantation. *Pharmacogenomics* 2007; **8**: 1127-1141.
98. Bernard O, Guillemette C. The main role of UGT1A9 in the hepatic metabolism of mycophenolic acid and the effects of naturally occurring variants. *Drug Metab Dispos* 2004; **32**: 775-778.

99. Mourad M, Wallemacq P, De Meyer M, *et al.*. Biotransformation enzymes and drug transporters pharmacogenetics in relation to immunosuppressive drugs: impact on pharmacokinetics and clinical outcome. *Transplantation* 2008; **85**: S19-24.
100. Djebli N, Picard N, Rerolle JP, *et al.*. Influence of the UGT2B7 promoter region and exon 2 polymorphisms and comedications on Acyl-MPAG production in vitro and in adult renal transplant patients. *Pharmacogenet Genomics* 2007; **17**: 321-330.
101. Kuypers DR, Naesens M, Vermeire S, *et al.*. The impact of uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 1A9 (UGT1A9) gene promoter region single-nucleotide polymorphisms T-275A and C-2152T on early mycophenolic acid dose-interval exposure in de novo renal allograft recipients. *Clin Pharmacol Ther* 2005; **78**: 351-361.
102. Johnson LA, Oetting WS, Basu S, *et al.*. Pharmacogenetic effect of the UGT polymorphisms on mycophenolate is modified by calcineurin inhibitors. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; **64**: 1047-1056.
103. van Schaik RH, van Agteren M, de Fijter JW, *et al.*. UGT1A9 -275T>A/-2152C>T polymorphisms correlate with low MPA exposure and acute

rejection in MMF/tacrolimus-treated kidney transplant patients. *Clin Pharmacol Ther* 2009; **86**: 319-327.

104. Kagaya H, Inoue K, Miura M, *et al.*. Influence of UGT1A8 and UGT2B7 genetic polymorphisms on mycophenolic acid pharmacokinetics in Japanese renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol* 2007; **63**: 279-288.
105. Miura M, Kagaya H, Satoh S, *et al.*. Influence of drug transporters and UGT polymorphisms on pharmacokinetics of phenolic glucuronide metabolite of mycophenolic acid in Japanese renal transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2008; **30**: 559-564.
106. van Agteren M, Armstrong VW, van Schaik RH, *et al.*. AcylMPAG plasma concentrations and mycophenolic acid-related side effects in patients undergoing renal transplantation are not related to the UGT2B7-840G>A gene polymorphism. *Ther Drug Monit* 2008; **30**: 439-444.
107. Ting LS, Benoit-Biancamano MO, Bernard O, *et al.*. Pharmacogenetic impact of UDP-glucuronosyltransferase metabolic pathway and multidrug resistance-associated protein 2 transport pathway on mycophenolic acid

in thoracic transplant recipients: an exploratory study. *Pharmacotherapy* 2010; **30**: 1097-1108.

108. Dupuis R, Yuen A, Innocenti F. The influence of UGT polymorphisms as biomarkers in solid organ transplantation. *Clin Chim Acta* 2012; **413**: 1318-1325.
109. Kleinman L, Faull R, Walker R, *et al.*. Gastrointestinal-specific patient-reported outcome instruments differentiate between renal transplant patients with or without GI complications. *Transplant Proc* 2005; **37**: 846-849.
110. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; **1**: 307-310.
111. Budde K, Matz M, Durr M, *et al.*. Biomarkers of over-immunosuppression. *Clin Pharmacol Ther* 2011; **90**: 316-322.
112. Gieser G, Harigaya H, Colangelo PM, *et al.*. Biomarkers in solid organ transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 2011; **90**: 217-220.

113. Girard H, Thibaudeau J, Court MH, *et al.*. UGT1A1 polymorphisms are important determinants of dietary carcinogen detoxification in the liver. *Hepatology* 2005; **42**: 448-457.
114. Nagar S, Rimmel RP. Uridine diphosphoglucuronosyltransferase pharmacogenetics and cancer. *Oncogene* 2006; **25**: 1659-1672.
115. Michelon H, Konig J, Durrbach A, *et al.*. SLCO1B1 genetic polymorphism influences mycophenolic acid tolerance in renal transplant recipients. *Pharmacogenomics* 2010; **11**: 1703-1713.
116. Sanchez-Fructuoso AI, Maestro ML, Calvo N, *et al.*. The prevalence of uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 1A9 (UGT1A9) gene promoter region single-nucleotide polymorphisms T-275A and C-2152T and its influence on mycophenolic acid pharmacokinetics in stable renal transplant patients. *Transplant Proc* 2009; **41**: 2313-2316.
117. Woillard JB, Rerolle JP, Picard N, *et al.*. Risk of diarrhoea in a long-term cohort of renal transplant patients given mycophenolate mofetil: the significant role of the UGT1A8 2 variant allele. *Br J Clin Pharmacol* 2010; **69**: 675-683.

118. Brunet M, Martorell J, Oppenheimer F, *et al.* Pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolic acid in stable renal transplant recipients treated with low doses of mycophenolate mofetil. *Transpl Int* 2000; **13 Suppl 1**: S301-305.
119. Bullingham RE, Nicholls AJ, Kamm BR. Clinical pharmacokinetics of mycophenolate mofetil. *Clin Pharmacokinet* 1998; **34**: 429-455.
120. Borrows R, Chusney G, Loucaidou M, *et al.* Mycophenolic acid 12-h trough level monitoring in renal transplantation: association with acute rejection and toxicity. *Am J Transplant* 2006; **6**: 121-128.
121. Kuypers DR, Le Meur Y, Cantarovich M, *et al.* Consensus report on therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid in solid organ transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; **5**: 341-358.
122. Sanchez Fructuoso AI, de la Higuera MA, Garcia-Ledesma P, *et al.* Graft outcome and mycophenolic acid trough level monitoring in kidney transplantation. *Transplant Proc* 2009; **41**: 2102-2103.
123. Budde K, Bauer S, Hambach P, *et al.* Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of enteric-coated mycophenolate sodium

and mycophenolate mofetil in maintenance renal transplant patients. *Am J Transplant* 2007; **7**: 888-898.

124. Glanemann M, Klupp J, Langrehr JM, *et al...* Mycophenolate mofetil is superior in combination with tacrólimus compared to cyclosporine for immunosuppressive therapy after liver transplantation. *Transplant Proc* 2001; **33**: 1069-1070.
125. Kaplan B, Meier-Kriesche HU, Minnick P, *et al...* Randomized calcineurin inhibitor cross over study to measure the pharmacokinetics of co-administered enteric-coated mycophenolate sodium. *Clin Transplant* 2005; **19**: 551-558.
126. Barraclough KA, Isbel NM, Franklin ME, *et al...* Evaluation of limited sampling strategies for mycophenolic acid after mycophenolate mofetil intake in adult kidney transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2010; **32**: 723-733.
127. Bruchet NK, Ensom MH. Limited sampling strategies for mycophenolic acid in solid organ transplantation: a systematic review. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2009; **5**: 1079-1097.

128. Sanchez Fructuoso AI, Perez-Flores I, Calvo N, *et al...* Limited-sampling strategy for mycophenolic acid in renal transplant recipients receiving enteric-coated mycophenolate sodium and tacrólimus. *Ther Drug Monit* 2012; **34**: 298-305.
129. Pawinski T, Luszczynska P, Durlik M, *et al...* Development and validation of limited sampling strategies for the estimation of mycophenolic acid area under the curve in adult kidney and liver transplant recipients receiving concomitant enteric-coated mycophenolate sodium and tacrólimus. *Ther Drug Monit* 2013; **35**: 760-769.
130. Ranganathan D, John GT, Healy H, *et al...* A Protocol for the Pharmacokinetics of Enteric Coated Mycophenolate Sodium in Lupus Nephritis (POEMSLUN): an open-label, randomised controlled trial. *BMJ Open* 2013; **3**.
131. Yao X, Huang H, Wei C, *et al...* Limited Sampling Strategy for Mycophenolic Acid in Chinese Kidney Transplant Recipients Receiving Enteric-Coated Mycophenolate Sodium and Tacrólimus During the Early Posttransplantation Phase. *Ther Drug Monit* 2015; **37**: 516-523.

ANEXOS



11ANEXOS.

11.1 TEST GIQLI

Durante las 2 últimas semanas...		TODO EL TIEMPO	CASI TODO EL TIEMPO	ALGUNAS VECES	RARAS VECES	NUNCA
1	¿ha sentido dolor de estómago o de tripa?	1	2	3	4	5
2	¿Ha sentido sensación de plenitud abdominal	1	2	3	4	5
3	¿ha sentido “hinchazón” (sensación de tener muchos gases en el estómago)?	1	2	3	4	5
4	¿ha sentido escape de ventosidades?	1	2	3	4	5
5	¿ha sentido fuertes eructos?	1	2	3	4	5
6	¿ha sentido ruidos llamativos en el estómago o las tripas?	1	2	3	4	5
7	¿ha sentido la necesidad de hacer de vientre con mucha frecuencia?	1	2	3	4	5
8	¿ha gozado o ha sentido placer comiendo?	1	2	3	4	5
9	¿se ha sentido triste o deprimido/a?	1	2	3	4	5
10	¿se ha sentido nervioso/a o con miedo?	1	2	3	4	5
11	¿se ha sentido satisfecho/a con su vida en general?	1	2	3	4	5
12	¿se ha sentido frustrado/a?	1	2	3	4	5
13	¿se ha sentido cansado/a o fatigado/a?	1	2	3	4	5
14	¿se ha sentido indispuesto/a?	1	2	3	4	5
15	¿ha podido llevar a cabo sus actividades cotidianas (por ejemplo, estudios, trabajo, labores domésticas)?	1	2	3	4	5
16	¿se ha sentido capaz de participar en actividades de recreo y tiempo libre?	1	2	3	4	5
17	¿ha sentido que la comida o los líquidos le subían a la boca (Regurgitación) ?	1	2	3	4	5
18	¿ha sentido incomodidad por comer lento o despacio?	1	2	3	4	5
19	¿ha tenido problemas para tragar la comida?	1	2	3	4	5
20	¿ha sentido la necesidad de tener que hacer de vientre con urgencia, de repente ?	1	2	3	4	5

Durante las 2 últimas semanas...		TODO EL TIEMPO	CASI TODO EL TIEMPO	ALGUNAS VECES	RARAS VECES	NUNCA
21	¿ha tenido diarrea?	1	2	3	4	5
22	¿ha tenido estreñimiento?	1	2	3	4	5
23	¿ha tenido náuseas?	1	2	3	4	5
24	¿ha tenido sangre en las heces?	1	2	3	4	5
25	¿ha tenido acidez de estómago?	1	2	3	4	5
26	¿ha tenido problemas para contener las heces?	1	2	3	4	5

	mucho	bastante	algo	un poco	nada
27 ¿En qué medida le ha provocado su enfermedad cambios molestos en su apariencia o aspecto físico?	1	2	3	4	5
28 . Como consecuencia de su enfermedad, ¿en qué medida ha empeorado su vitalidad?	1	2	3	4	5
29 Como consecuencia de su enfermedad, ¿en qué medida ha perdido su aguante o resistencia física?	1	2	3	4	5
30 Como consecuencia de su enfermedad, ¿en qué medida ha sentido disminuida su forma física?	1	2	3	4	5

	muchísimo	mucho	algo	un poco	nada
31 Durante las 2 últimas semanas ¿con qué frecuencia ha renunciado usted a comidas que le gustan, como consecuencia de su enfermedad?	1	2	3	4	5
32 Durante las 2 últimas semanas, ¿se ha sentido contrariado/a o molesto /a por el tratamiento médico de su enfermedad?	1	2	3	4	5
33 ¿En qué medida se han alterado las relaciones con sus personas cercanas (familia o amigos) como consecuencia de su enfermedad?	1	2	3	4	5
34 ¿En qué medida ha resultado perjudicada su vida sexual como consecuencia de su enfermedad?	1	2	3	4	5

<p>Durante las 2 últimas semanas ¿cómo ha 35 sobrellevado las tensiones idarias?</p>	muy mal	mal	regular	bien	muy bien
	1	2	3	4	5
	cada noche	5 o 6 noches	3 o 4 noches	1 o 2 noches	nunca
<p>Durante la última semana ¿se ha despertado 36 por la noche?</p>	1	2	3	4	5

11.2 TEST GSRS

Por favor, lea este párrafo antes de contestar el cuestionario:

Este cuestionario contiene preguntas acerca de cómo se ha encontrado usted DURANTE LA ÚLTIMA SEMANA. Marque con una cruz (X) la alternativa más adecuada.

1. ¿Ha tenido DOLOR O MALESTAR EN LA PARTE ALTA DEL ABDOMEN O EN LA BOCA DEL ESTÓMAGO durante la última semana?
 - ☐ Ninguna molestia en absoluto
 - ☐ Molestias insignificantes
 - ☐ Ligeras molestias
 - ☐ Molestias moderadas
 - ☐ Molestias bastante fuertes
 - ☐ Molestias fuertes
 - ☐ Molestias muy fuertes

2. ¿Ha tenido ARDOR DE ESTOMAGO durante la última semana? (Por ardor de estómago nos referimos a una sensación desagradable de quemazón en el pecho)
 - ☐ Ninguna molestia en absoluto
 - ☐ Molestias insignificantes
 - ☐ Ligeras molestias
 - ☐ Molestias moderadas
 - ☐ Molestias bastante fuertes
 - ☐ Molestias fuertes
 - ☐ Molestias muy fuertes

3. ¿Ha tenido REFLUJO ACIDO durante la última semana? (Por reflujo ácido nos referimos a la subida de pequeñas cantidades de ácido desde el estómago a la garganta)
 - ☐ Ninguna molestia en absoluto
 - ☐ Molestias insignificantes
 - ☐ Ligeras molestias
 - ☐ Molestias moderadas
 - ☐ Molestias bastante fuertes

4. ¿Ha tenido SENSACION DE HAMBRE durante la última semana? (Por sensación de hambre nos referimos a la necesidad de comer entre comidas)
- ☐ Ninguna molestia en absoluto
 - ☐ Molestias insignificantes
 - ☐ Ligeras molestias
 - ☐ Molestias moderadas
 - ☐ Molestias bastante fuertes
 - ☐ Molestias fuertes
 - ☐ Molestias muy fuertes
5. ¿Ha tenido NAUSEAS durante la última semana? (Por náuseas nos referimos a la sensación que antecede a las arcadas y a los vómitos)
- ☐ Ninguna molestia en absoluto
 - ☐ Molestias insignificantes
 - ☐ Ligeras molestias
 - ☐ Molestias moderadas
 - ☐ Molestias bastante fuertes
 - ☐ Molestias fuertes
 - ☐ Molestias muy fuertes
6. ¿Ha tenido molestias porque "LE HAYAN HECHO RUIDO LAS TRIPAS"? (Por hacer ruido las tripas se entiende los movimientos intestinales)
- ☐ Ninguna molestia en absoluto
 - ☐ Molestias insignificantes
 - ☐ Ligeras molestias
 - ☐ Molestias moderadas
 - ☐ Molestias bastante fuertes
 - ☐ Molestias fuertes
 - ☐ Molestias muy fuertes
7. ¿Ha tenido HINCHAZON DE ESTOMAGO durante la última semana? (Por hinchazón nos referimos a tener gases en el estómago)
- ☐ Ninguna molestia en absoluto
 - ☐ Molestias insignificantes
 - ☐ Ligeras molestias
 - ☐ Molestias moderadas
 - ☐ Molestias bastante fuertes
 - ☐ Molestias fuertes
 - ☐ Molestias muy fuertes

8. ¿Ha tenido ERUCTOS durante la última semana? (Por eructos nos referimos a la expulsión de aire por la boca, que se asocia a menudo con una sensación de alivio)

- ☐ Ninguna molestia en absoluto
- ☐ Molestias insignificantes
- ☐ Ligeras molestias
- ☐ Molestias moderadas
- ☐ Molestias bastante fuertes
- ☐ Molestias fuertes
- ☐ Molestias muy fuertes

9. ¿Ha tenido VENTOSIDADES durante la última semana? (Por ventosidades nos referimos a la necesidad de "tirarse pedos", que se asocia a menudo con una sensación de alivio)

- ☐ Ninguna molestia en absoluto
- ☐ Molestias insignificantes
- ☐ Ligeras molestias
- ☐ Molestias moderadas
- ☐ Molestias bastante fuertes
- ☐ Molestias fuertes
- ☐ Molestias muy fuertes

10. ¿Ha estado ESTREÑIDO durante la última semana? (Por estreñimiento nos referimos a "hacer de vientre" con menor frecuencia de la habitual)

- ☐ Ninguna molestia en absoluto
- ☐ Molestias insignificantes
- ☐ Ligeras molestias
- ☐ Molestias moderadas
- ☐ Molestias bastante fuertes
- ☐ Molestias fuertes
- ☐ Molestias muy fuertes

11. ¿Ha tenido DIARREA durante la última semana? (Por diarrea nos referimos a un aumento excesivo en la frecuencia de las deposiciones)

- ☐ Ninguna molestia en absoluto
- ☐ Molestias insignificantes
- ☐ Ligeras molestias
- ☐ Molestias moderadas
- ☐ Molestias bastante fuertes
- ☐ Molestias fuertes
- ☐ Molestias muy fuertes

12. ¿Ha tenido DEPOSICIONES BLANDAS durante la última semana? (Si sus deposiciones han sido unas veces duras y otras blandas, esta pregunta se refiere solamente a las molestias que haya podido sentir a causa de las deposiciones blandas)

- ☐ Ninguna molestia en absoluto
- ☐ Molestias insignificantes
- ☐ Ligeras molestias

- ☐ Molestias moderadas
- ☐ Molestias bastante fuertes
- ☐ Molestias fuertes
- ☐ Molestias muy fuertes

13. ¿Ha tenido DEPOSICIONES DURAS durante la última semana? (Si sus deposiciones han sido unas veces duras y otras blandas, esta pregunta se refiere solamente a las molestias que haya podido sentir a causa de las deposiciones duras)

- ☐ Ninguna molestia en absoluto
- ☐ Molestias insignificantes
- ☐ Ligeras molestias
- ☐ Molestias moderadas
- ☐ Molestias bastante fuertes
- ☐ Molestias fuertes
- ☐ Molestias muy fuertes

14. ¿Ha tenido una NECESIDAD URGENTE DE HACER DE VIENTRE durante la última semana? (Por necesidad urgente de hacer de vientre se entiende la necesidad repentina de ir al lavabo, que suele asociarse a la sensación de "no poder aguantar más")

- ☐ Ninguna molestia en absoluto
- ☐ Molestias insignificantes
- ☐ Ligeras molestias
- ☐ Molestias moderadas
- ☐ Molestias bastante fuertes
- ☐ Molestias fuertes
- ☐ Molestias muy fuertes

15. ¿Al ir al lavabo durante la última semana, ¿ha tenido la sensación de NO HABER TERMINADO DE HACER DE VIENTRE? (Nos referimos a la sensación de no haber evacuado completamente a pesar de haberse esforzado)

- ☐ Ninguna molestia en absoluto
- ☐ Molestias insignificantes
- ☐ Ligeras molestias
- ☐ Molestias moderadas
- ☐ Molestias bastante fuertes
- ☐ Molestias fuertes
- ☐ Molestias muy fuertes

11.3 ANEXO III. CONSENTIMIENTO INFORMADO

 Hospital Clínico San Carlos <small>SaludMadrid</small> <small>UNIVERSIDAD DE MADRID</small>	Consentimiento Informado
--	-------------------------------------

Hoja de Información al Paciente y Consentimiento

Antes de proceder a la firma del consentimiento informado le rogamos lea la siguiente información.

Espacio para la etiqueta
identificativa del paciente

Aspectos Generales

La participación en el estudio es completamente **voluntaria** y su decisión no afectará a su atención médica.

Los objetivos del estudio, riesgos, inconvenientes, molestias o cualquier otro tipo de información sobre el mismo que usted requiera le serán facilitados por su médico.

Si usted da su consentimiento, en cualquier momento **puede revocarlo** e incluso solicitar la destrucción de las muestras obtenidas.

Título del Estudio

Estudio de polimorfismos genéticos en pacientes trasplantados renales.

Objetivo del Estudio

El objetivo principal es poder establecer marcadores genéticos que puedan ser predictores eficaces de la evolución del trasplante.

Para el estudio, sólo se precisa la obtención de una muestra de sangre.

Beneficios Esperados

Se espera poder profundizar en el conocimiento de las bases genéticas que puedan estar implicadas en supervivencia del injerto renal.

Posibles Efectos Adversos Derivados del Estudio

En el caso de la extracción de una muestra de sangre, sólo se esperan las molestias y riesgos menores que puedan derivarse de su obtención mediante venopunción.

Confidencialidad de los Datos y Seguridad de la Muestra e Información Clínica

De acuerdo con la normativa española y de la Comunidad Europea, su muestra de ADN, y su información clínica será guardada de forma independiente de su información personal, es decir, sus datos del estudio estarán codificados. La información que usted nos proporcione será manejada siguiendo las recomendaciones de la ley de protección de datos vigente (Ley orgánica de protección de datos de carácter personal (LOPD) 15/1999 de 13 de diciembre).

Sus datos serán incluidos en un/unos fichero/s cuyo/s responsable/s son el Biobanco y/o el Hospital Clínico San Carlos. Usted podrá ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación u oposición, poniéndose en contacto con el Biobanco o con el Servicio de Nefrología.

En el caso que estas investigaciones proporcionen **datos que pudieran ser relevantes** para su salud o la de su familia, tiene derecho a que le sean comunicados, si así lo desea. Si la información es relevante para su familia, le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo.

Cesión de remanentes

Los remanentes de su muestra, podrán ser empleados en otros estudios de la misma línea de investigación del Servicio de Nefrología.

Si **NO** desea ceder los remanentes al Servicio de Nefrología marque la siguiente casilla ☐

Publicaciones en revistas
internacionales y
Comunicaciones a congresos.



12 DIFUSIÓN DE LA TESIS

12.1 Publicaciones en revistas internacionales

1. Calvo N, Sanchez-Fructuoso AI, Conesa J, *et al...* Renal transplant patients with gastrointestinal intolerance to mycophenolate mofetil: conversion to enteric-coated mycophenolate sodium. *Transplant Proc* 2006; **38**: 2396-2397.
2. Sanchez Fructuoso AI, Perez-Flores I, Calvo N, *et al...* Limited-sampling strategy for mycophenolic acid in renal transplant recipients receiving enteric coated mycophenolate sodium and tacrólimus. *Ther Drug Monit* 2012; **34**: 298-305.
3. A Sánchez Fructuoso, N Calvo, M A Moreno, *et al..* "Better mycophenolic acid 12-hour trough level after enteric-coated mycophenolate sodium in patients with gastrointestinal intolerance to mycophenolate mofetil.", *Transplant Proc* 2007, **39**, no. 7.
4. Sanchez-Fructuoso AI, de la Higuera MA, Giorgi M, *et al...* Inadequate mycophenolic acid exposure and acute rejection in kidney transplantation. *Transplant Proc* 2009; **41**: 2104-2105.
5. Sanchez-Fructuoso AI, Maestro ML, Calvo N, *et al..* The prevalence of uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 1A9 (UGT1A9) gene

promoter region single-nucleotide polymorphisms T-275A and C-2152T and its influence on mycophenolic acid pharmacokinetics in stable renal transplant patients. *Transplant Proc* 2009; **41**: 2313-2316.

12.2 Comunicaciones a Congresos

1. **Calvo, N.**; Sanchez-Fructuoso, A.I.; Conesa, J.; Moreno, A.; Barrientos, A. Trasplantes renales con intolerancia digestiva al micofenolato mofetil: Conversión a micofenolato sódico con cubierta entérica. Comunicación Poster del IV Reunión Sociedad Madrileña de Nefrología. La Granja Segovia. 2008.
2. **N. Calvo**, A. Sánchez Fructuoso, M.L. Maestro, S. Veganzone, I. Pérez Flores, V. de la Orden, D. Ortega, M. Arroyo, A. Barrientos. Valor de la farmacogenómica en una población de trasplantados renales tratados con ácido micofenólico. V Reunión Sociedad Madrileña de Nefrología. 19-20 de Junio de 2009. La Granja. Segovia. Oral.
3. **N. Calvo**, A. Sánchez Fructuoso, I. Pérez Flores, P. García Ledesma, P. Delgado, D. Ortega, M. Arroyo, A. Barrientos. Ajuste de dosis de micofenolato: búsqueda de puntos farmacocinéticos apropiados para monitorizar. V Reunión Sociedad Madrileña de Nefrología. 19-20 de Junio de 2009. La Granja. Segovia. Poster.
4. **N. Calvo**, A. Sánchez Fructuoso, M.L. Maestro, S. Veganzone, I. Pérez Flores, V. de la Orden, D. Ortega, M. Arroyo, A. Barrientos. Calidad de

vida gastrointestinal y farmacocinética del ácido micofenólico en trasplantes renales: comparación de curvas con micofenolato sódico y micofenolato mofetilo en pacientes con y sin polimorfismos genéticos de la UGT1A9 (2152C>T, 275T>A). X Congreso de la Sociedad Catalana de Trasplante. Barcelona 2225 de Febrero de 2009

5. **AI. SanchezFructuoso**, M. L. Maestro, N. Calvo, M. Vidaurreta, S. Veganzones, I. PerezFlores, V. De la Orden, E. Matilla, A. Barrientos. Prevalence of Uridine DiphosphateGlucuronosyltransferase 1A9 (UGT1A9) Gene Promoter Region SingleNucleotide Polymorphisms T275A and C2152T and Its Influence on Renal Function and Graft Rejection. XXX Annual Meeting of the American Society of Transplant, Philadelphia, USA, 30 Abril4 Mayo 2011. Am J Transpl 11 (Supl 6), 269.
6. **AI. SanchezFructuoso**, I. PerezFlores, N. Calvo, J. M. Santin, E. Matilla, D. Ortega, C. FernándezPerez, A. Barrientos. A Model for the Prediction of Appropriate Dose of Mycophenolic Acid in Renal Transplant Patients. XXX Annual Meeting of the American Society of Transplant, Philadelphia, USA, 30 Abril4 Mayo 2011. Am J Transpl 11 (Supl 6), 319.
7. **AI. SanchezFructuoso**, I. Perez Flores, N. Calvo, C. FernandezPerez, E. Matilla, A. Barrientos. Limited Sampling Strategy for the Estimation of the Area under the ConcentrationTime Curve of Mycophenolic Acid (MPA) in Adult Kidney Transplant Recipients (KTs) Receiving EntericCoated

- Mycophenolate Sodium (ECMPS). XXX Annual Meeting of the American Society of Transplant, Philadelphia, USA, 30 April 4 Mayo 2011. Am J Transpl 11 (Supl 6), 320.
8. **AI. SanchezFructuoso**, N. Calvo, I. PerezFlores, C. FernandezPerez, E. Matilla, A. Barrientos. Validation of Limited Sampling Strategy for the Estimation of Mycophenolic Acid (MPA) Exposure in Kidney Transplant Patients (KTs) Treated with EntericCoated Mycophenolate Sodium (ECMPS) and mTOR Inhibitors or Cyclosporine. XXX Annual Meeting of the American Society of Transplant, Philadelphia, USA, 30 April 4 Mayo 2011. Am J Transpl 11 (Supl 6), 320.
 9. **SánchezFructuoso AI.**, Calvo N, Maestro ML, Vidaurreta M, PerezFlores I, Veganzone S, De la Orden V, Ortega D, Arroyo M, Barrientos A. The Prevalence of Uridine DiphosphateGlucuronosyltransferase 1A9 (UGT1A9) Gene Promoter Region: SingleNucleotide Polymorphisms T275A and C2152T and Its Influence on Mycophenolic Acid Pharmacokinetics in Stable Renal Transplant Patients. . XXVIII Annual Meeting of the American Society of Transplant. Boston, USA, 31 Mayo a 2 Junio 2009. American Journal of Transplantation. 9 Suppl 2:498, May 2009
 10. **Sánchez Fructuoso AI**, N. Calvo Romero, I. Pérez Flores, N. Ridao Cano, A. Rodríguez, R. Valero San Cecilio. Aproximacion clinica para el

- calculo de la dosis adecuada de micofenolato mofetil o sódico. I Congreso de la Sociedad Española de Trasplante. Sevilla, 25 Junio 2010.
11. **Sánchez Fructuoso AI**, N. Calvo Romero, I. Perez Flores, J.M. Santin Cantero, E. Matilla Villar, Fernandez Perez C. Estudio comparativo de la farmacocinetica de micofenolato sodico en pacientes tratados con tacrolimus versus pacientes tratados con inhibidores de mTOR. I Congreso de la Sociedad Española de Trasplante. Sevilla, 25 Junio 2010.
12. **Sánchez Fructuoso AI**, N. Calvo Romero, M. Viudarreta, . PérezFlores, S. Veganzone, I V. De la Orden, M.L. Maestro. Polimorfismos geneticos de la UGT1A9 2152CT, 275TA y su impacto en la farmacocinetica de acido micofenolico y evolucion del trasplante renal. I Congreso de la Sociedad Española de Trasplante. Sevilla, 25 Junio 2010.
13. **Sánchez Fructuoso AI**, N. Calvo Romero, I. PérezFlores, J.M. Santin Cantero , N. Ridaó, E. Matilla, C. Fernandez Perez. Validacion de las curvas abreviadas descritas para el calculo del area bajo la curva total de acido micofenolico en pacientes tratados con micofenolato mofetil. I Congreso de la Sociedad Española de Trasplante. Sevilla, 25 Junio 2010.
14. **Sánchez Fructuoso AI**, PérezFlores I, N. Calvo Romero, N. Ridaó Cano, A. Rodríguez, C. FernándezPerez. Estrategia de muestras limitadas para estimar el calculo del area bajo la curva total AUC 012 h en trasplantes estables en mantenimiento tratados con micofenolato sodico y

- tacrolimus. Validacion en pacientes no tratados con tacrolimus. I Congreso de la Sociedad Española de Trasplante. Sevilla, 25 Junio 2010.
15. Natividad Calvo, **Ana Isabel Sánchez Fructuoso**, Maria Luisa Maestro, Silvia Véganzone, Isabel PérezFlores, Virginia De la Orden, Dolores Ortega, Manuel Arroyo, Alberto Barrientos. Valor de la farmacogenómica en una población de trasplantados renales tratados con ácido micofenólico. V Reunión Sociedad Madrileña de Nefrología. 20 de Junio, 2009. La Granja, Segovia.
16. PérezFlores I, **Sánchez Fructuoso AI**, Calvo N, GarcíaLedesma P, Ortega D, Portolés A, Arroyo M, Barrientos A. Farmacocinética de ácido micofenólico en pacientes tratados con micofenolato sódico con cubierta entérica (MPS). V Reunión Sociedad Madrileña de Nefrología. 20 de Junio, 2009. La Granja, Segovia.
17. Natividad Calvo, **Ana Isabel Sánchez Fructuoso**, Isabel PérezFlores, Paula GarcíaLedesma, Pablo Delgado, Dolores Ortega, Manuel Arroyo, Alberto Barrientos. Ajuste de dosis de micofenolato: búsqueda de puntos farmacocinéticos apropiados para monitorizar. V Reunión Sociedad Madrileña de Nefrología. 20 de Junio, 2009. La Granja, Segovia.
18. **Sánchez Fructuoso AI**, Maestro ML, Calvo N, Véganzone S, PérezFlores I, De la Orden V, Ortega D, Arroyo M, Barrientos A. Estudio de los polimorfismos genéticos de la UGT1A9 (2152c>t, 275t>a) en una

población de trasplantados renales. X Congreso de la Sociedad Catalana de Trasplante. Barcelona 25 Febrero de 2009.

19. **Sánchez Fructuoso AI**, PérezFlores I, Calvo N, Portolés A, Ridao N, FernándezPérez C, Ortega D, Barrientos A. Utilizacion de curvas abreviadas para el cálculo del área bajo la curva total (AUC) 0-12 h en trasplantes estables en mantenimiento tratados con micofenolato sódico con cubierta entérica (MPS). X Congreso de la Sociedad Catalana de Trasplante. Barcelona 25 Febrero de 2009.

20. **Sánchez Fructuoso AI**, PérezFlores I, Calvo N, Ridao N, Rodríguez A, Delgado P, Ortega D, Arroyo M, Barrientos A. Farmacocinética de MPA: ¿cuál es el mejor punto para monitorizar?. X Congreso de la Sociedad Catalana de Trasplante. Barcelona 25 Febrero de 2009.